

a 63392



WHO/Ma1/408
15 août 1963

ORIGINAL : ANGLAIS

LA DEFICIENCE EN GLUCOSE-6-PHOSPHATE DESHYDROGENASE AU NIGERIA¹

par le

Dr J. C. Edozien, M.R.C.P.
Department of Chemical Pathology,
Université d'Ibadan, Nigéria

En 1952, Hochwald, Arnold, Clayman & Alving avaient observé sur des Noirs américains que l'administration de primaquine provoquait une anémie hémolytique aiguë chez 10 % des sujets; en 1956, Carson, Flanagan, Ickes & Alving établirent que les érythrocytes des sujets sensibles manquaient de glucose-6-phosphate déshydrogénase. Depuis, différents auteurs (Allison & Clyde, 1961; Allison, 1963; Motulsky, 1961; Kidson & Gorman, 1962) ont essayé de définir le rôle biologique de cette carence enzymatique héréditaire et d'élucider le mécanisme de l'hémolyse provoquée par des médicaments chez les individus carencés en glucose-6-phosphate déshydrogénase. Malgré l'abondance des données recueillies, les problèmes ne sont toujours pas résolus.

Des recherches faites en Afrique occidentale (Gilles & Taylor, 1961; Harris & Gilles, 1961; Allison, Charles & McGregor, 1961) ont déjà montré que 17 à 24 % de la population masculine présentent cette carence enzymatique. Mais pour étudier certains des problèmes susmentionnés, il faut d'abord constituer un groupe d'individus carencés en glucose-6-phosphate déshydrogénase qui puissent servir de sujets d'expérience. La présente communication donne une analyse préliminaire des résultats d'une enquête destinée à constituer un tel groupe.

¹ Les travaux exposés dans la présente communication ont bénéficié d'une subvention de recherche accordée par l'Organisation mondiale de la Santé.

METHODES

Nous avons prélevé sur des sujets adultes environ 25 ml de sang dans une des veines du bras. Sur 4 ml de ce sang mélangés à 1 ml d'une solution de dextrose dans l'acide citrique, nous avons déterminé la G-6 PD. Placé dans un flacon de verre héparinisé, le reste du sang a servi à déterminer la consommation d'oxygène, la teneur en hémoglobine, le volume du sédiment globulaire, le génotype de l'hémoglobine et la fragilité osmotique.

G-6 PD

Nous avons utilisé la méthode de Dawson, Thayer & Desforges (1958). Ayant constaté qu'il se produisait une nette diminution de l'activité enzymatique pendant la dialyse de l'hémolysant d'érythrocytes, nous avons renoncé à cette opération. Les résultats expriment la variation de la densité optique à 340 m μ , sur cinq minutes, pour un incrément de 0,1 g Hb dans 100 ml de solution. Comme le volume du sédiment globulaire et la teneur en hémoglobine sont connus, on peut - si l'on préfère - exprimer les résultats en densité optique à 340 m μ pour 1 minute et pour 100 ml d'érythrocytes.

ABSORPTION D'OXYGENE PAR LES ERYTHROCYTES

Nous avons utilisé la méthode manométrique (Marks, Johnson, Hirschbergand & Banks, 1958; Umbreit, Burris & Stauffer, 1957). La quantité d'oxygène absorbée par les érythrocytes a été mesurée dans les conditions d'expérience suivantes : introduction dans l'appendice latéral de la fiole de Warburg de 30 μ moles de glucose dans 0,5 ml H₂O, avec 0,25 μ moles de bleu de méthylène dans 0,5 ml d'eau distillée, 1,0 ml d'une suspension d'hématies lavées (hématocrite 50 %) et une quantité de tampon phosphaté de Krebs-Ringer suffisante pour obtenir un volume total de 3,0 ml. La cupule centrale de la fiole renfermait un morceau de papier filtre Whatman No 1 imprégné de 0,20 ml d'une solution de KOH à 20 %. Pour l'équilibrage, nous nous sommes servi d'oxygène pur.

Hémoglobine

Nous avons utilisé la méthode à l'oxyhémoglobine. Au moyen d'une pipette, on introduit 10 µl de sang dans 4 ml d'une solution d'hydroxyde d'ammonium à 0,04 %. La densité optique est mesurée à 540 mµ avec un spectrophotomètre "Unicam SP 500" et les valeurs d'hémoglobine sont lues sur une courbe d'étalonnage.

Fragilité osmotique des érythrocytes

Nous avons utilisé la méthode de Dacie (1956).

Génotype de l'hémoglobine

Une fois lavés au soluté physiologique, les érythrocytes ont été hémolysés avec un égal volume d'eau. Après avoir recouvert l'émolysat d'une couche de toluène, nous avons mélangé soigneusement, puis centrifugé. Pour l'électrophorèse de la solution d'hémoglobine, nous avons procédé sur papier Whatman No 3, en utilisant un tampon de barbitone (pH 8,6) et en appliquant une force ionique de 0,05 sous 200 volts pendant dix heures.

RESULTATS

Fréquence de la carence en G-6 PD

Les résultats sont présentés dans la figure 1 et au tableau 1. Ils confirment les observations antérieures sur la fréquence de la carence en G-6 PD à Ibadan (Gilles & Taylor, 1961) et sur la distribution de cette carence chez les hommes et les femmes respectivement. Après examen de cette distribution chez les hommes, nous avons considéré qu'une valeur inférieure à 15 unités correspondait à un état de carence, une valeur de 15 à 40 unités à une carence partielle et une valeur supérieure à 40 unités à la norme. Chez les sujets du sexe masculin, la distribution est bimodale : 20 % des individus sont carencés, 78 % sont normaux et 2 % seulement accusent une carence partielle en G-6 PD. Au contraire, 5 % des femmes sont carencées, 81 % normales et 14 % se classent dans le groupe intermédiaire; malheureusement, les

démarcations sont imprécises, de sorte que chez les femmes la distribution paraît être continue plutôt que nettement trimodale. Les résultats concordent avec l'hypothèse que la carence est transmise héréditairement par un gène lié au sexe, d'expression variable.

G-6 PD et absorption d'oxygène

Les résultats sont présentés dans les figures 2 et 3 et au tableau 1. Chez les individus carencés en G-6 PD, l'absorption érythrocytaire d'oxygène est fortement diminuée. Chez les sujets à G-6 PD intermédiaire, on note une large dispersion des valeurs de l'absorption d'oxygène : les érythrocytes dont la teneur en G-6 PD dépasse 40 unités ont une consommation normale d'oxygène, c'est-à-dire supérieure à 400 μ l par heure et par gramme d'hémoglobine. La valeur 40 semble donc représenter la concentration critique de G-6 PD dans les érythrocytes : au-dessus de ce seuil, la consommation d'oxygène est indépendante de la teneur en enzyme, alors qu'au-dessous cette consommation est généralement réduite.

G-6 PD et fragilité globulaire (fragilité osmotique des érythrocytes)

Nous n'avons trouvé aucune corrélation entre la déficience en G-6 PD et la fragilité globulaire.

Carence en G-6 PD et transmission héréditaire des génotypes hémoglobiniques

Nous n'avons découvert aucune relation entre la transmission héréditaire de la carence en G-6 PD et le génotype Hb. Sur les 20 hommes carencés en G-6 PD, six (soit 30 %) avaient le génotype hémoglobinique AS. Nous n'avons pas observé l'association du gène C et de la carence en G-6 PD dans cette série de 200 individus mais une enquête ultérieure sur 450 individus a révélé trois sujets masculins ayant un génotype hémoglobinique AC et une carence en G-6 PD et un sujet féminin présentant cette même association.

Génotype hémoglobinique et fragilité globulaire

Les résultats présentés dans le tableau 1 montrent que le gène hémoglobinique C exerce une influence profonde sur la fragilité des érythrocytes qui, chez les individus AC, sont extrêmement résistants à l'hémolyse. Le gène S semble exercer un effet analogue mais beaucoup moins accusé.

Nous avons également étudié la résistance globulaire chez 25 Européens de sexe masculin, résidant à Ibadan. La concentration de chlorure de sodium pour une hémolyse de 50 % était comprise entre 0,390 % et 0,443 %, avec une valeur moyenne de 0,424 %.

Chez les 100 hommes nigériens dont le sang a été étudié, la concentration de chlorure de sodium pour une hémolyse de 50 % était inférieure à 0,390 % dans 23 cas (23 %) dont 8 (34,8 %) avaient un génotype hémoglobinique AA, 8 (34,8 %) un génotype AS et 7 (30,4 %) un génotype AC. Cette distribution des individus à fragilité globulaire diminuée est à comparer à la distribution des génotypes hémoglobiniques dans la série étudiée, à savoir :

AA	66 %
AS	25 %
AC	9 %

Pour les deux derniers individus à génotype hémoglobinique AC, la fragilité globulaire moyenne (FGM) était de 0,390 % et 0,392 %.

Nous avons également étudié la résistance globulaire chez 40 médecins et techniciens nigériens de sexe masculin. Ce groupe comptait trois individus à génotype hémoglobinique AC; leur fragilité globulaire moyenne était de 0,342 %, 0,248 % et 0,372 % respectivement. Sur les 37 autres sujets, deux seulement - un sujet AS et un sujet AA - avaient une FGM inférieure à 0,390 % (0,375 % pour le sujet AA et 0,374 % pour le sujet AS). Chez l'un et l'autre la teneur en enzyme était normale (96 unités et 47 unités respectivement).

DISCUSSION

Chez les mammifères, l'énergie que le métabolisme du glucose met à la disposition des érythrocytes suit au moins deux voies : la première - celle d'Embden-Meyerhof - aboutit à la formation d'acide lactique, de DPNH et d'ATP; la seconde - cycle du pentose-monophosphate - aboutit à la production d'énergie potentielle sous la forme de TPNH. Le DPNH et le TPNH produits par les érythrocytes sont nécessaires notamment pour maintenir l'hémoglobine à l'état réduit, pour assurer une teneur constante en glutathion réduit : la première de ces fonctions dépend en grande partie de la production de DPNH alors que la seconde dépend surtout de la production de TPNH.

Le taux d'utilisation d'oxygène par le sang normal est relativement faible quand on le compare à celui d'autres tissus (Denstedt, 1953). Harrop & Barron (1928) ont été les premiers à observer que le bleu de méthylène avait un effet remarquable sur la consommation d'oxygène : ils ont établi qu'en présence de ce corps l'absorption de O_2 augmente dans le rapport de 1 à 20. Le mécanisme d'action du bleu de méthylène n'est pas encore complètement expliqué mais il semble que ce colorant puisse opérer le transfert de H^+ soit du DPNH, soit du TPNH, à l'oxygène atmosphérique.

La consommation d'oxygène, mesurée en présence de bleu de méthylène dans le système, représente l'activité métabolique maximum des érythrocytes dans le type d'expérience décrit. Dans les conditions utilisées pour la présente étude, la consommation maximum d'oxygène des globules rouges normaux est d'environ 550 μ l par heure et par gramme d'hémoglobine, alors que la consommation d'oxygène des érythrocytes carencés en G-6 PD n'est que de 200 μ l par heure et par g Hb. La G-6 PD catalyse l'oxydation du glucose-6 phosphate en acide phospho-6-gluconique, ce qui est la première étape dans la voie oxydante directe du métabolisme glucosique; on peut admettre qu'en l'absence de l'enzyme, les érythrocytes ne peuvent réaliser cette transformation métabolique du glucose. Ainsi, dans les conditions d'expérience décrites, les deux tiers de l'énergie disponible viennent de la voie oxydante directe et

le dernier tiers de la voie glycolytique d'Embden-Meyerhof. Par ses travaux sur le métabolisme érythrocytaire, Murphy (1960) a montré que les propositions d'énergie fournies par les deux systèmes dépendent de la concentration en oxygène du gaz équilibrant ainsi que d'autres facteurs.

Dans la recherche du mécanisme par lequel certains médicaments provoquent l'hémolyse chez les individus carencés en G-6 PD, on s'est insuffisamment préoccupé du composant métabolique qui semble indépendant de la voie oxydante directe. Dans le cas des érythrocytes pauvres en G-6 PD, l'énergie provenant de ce composant métabolique peut suffire, en conditions normales, à maintenir l'intégrité des globules rouges. Mais tout médicament inhibant ou contrariant l'action de ce composant peut provoquer l'hémolyse de ceux des érythrocytes qui, faute de G-6 PD, sont incapables de réaliser le cycle pentose-monophosphate.

La profonde influence que le gène hémoglobinique C exerce sur la fragilité globulaire ne manque pas d'intérêt. L'hémoglobine C diffère de l'hémoglobine A par sa chaîne bêta (Hunt & Ingram, 1958) et les résultats des tests de résistance globulaire donnent à penser que la transmission héréditaire de la chaîne bêta de l'hémoglobine C peut être associée à une thalassémie de chaîne bêta, c'est-à-dire à un abaissement du taux de production de ce composant hémoglobinique. D'autre part, les concentrations globulaires moyennes en hémoglobine sont normales chez les sujets AC et, pour cette raison, la moindre fragilité globulaire qui s'observe chez eux peut ne pas être associée à une hémoglobinisation déficiente des hématies mais être due à une faible teneur en protéines totales et autres constituants osmotiquement actifs des globules rouges. Il y a là un problème qu'il faudrait étudier plus à fond.

Le fait qu'on ait observé chez les Nigériens des classes économiquement faibles une résistance globulaire plus élevée que chez des individus des couches supérieures montre bien l'importance d'investigations faites parallèlement dans les deux groupes envisagés et cela dans de nombreuses collectivités africaines. De telles études parallèles constituent un moyen relativement facile de faire le départ entre

les caractéristiques d'origine éventuellement génétique et celles qui peuvent être dues à des facteurs économiques et sociaux tels que la malnutrition ou l'infestation parasitaire. Compte tenu de l'effet des hémoglobines anormales, il ressort de la présente étude que la fragilité globulaire réduite de nombreux Nigériens est une anomalie qui s'expliquerait en grande partie par des facteurs socio-économiques, bien qu'il soit impossible d'exclure entièrement la responsabilité d'un syndrome héréditaire (la thalassémie), étant donné que l'anomalie se rencontre aussi - encore que beaucoup moins fréquemment - dans les classes de condition sociale et économique élevée.

La détermination des facteurs responsables de la différence de résistance globulaire appelle de nouvelles recherches. L'analyse préliminaire des données recueillies au cours de notre enquête indique que les concentrations globulaires moyennes en hémoglobine chez les sujets à fragilité globulaire réduite ne sont pas inférieures à celles que l'on trouve chez les individus à résistance globulaire normale; pour cette raison - et comme chez les sujets AC - nous poursuivons l'étude des concentrations en protéines totales et autres constituants osmotiquement actifs des globules rouges.

TABLEAU 1. ANALYSE DES RESULTATS DES DETERMINATIONS FAITES SUR 100 NIGERIENS ADULTES DU SEXE MASCULIN :
HEMOGLOBINE, VOLUME DU SEDIMENT GLOBULAIRE, ACTIVITE DE LA G-6 PD ERYTHROCYTAIRE,
ABSORPTION D'OXYGENE PAR LES ERYTHROCYTES ET FRAGILITE GLOBULAIRE

		Tous sujets (100)	G-6 PD >15 AA (52)	G-6 PD <15 AA (14)	G-6 PD >15 AS (19)	G-6 PD <15 AS (6)	G-6 PD >15 AC (9)
Volume du sédiment globulaire	Moyenne	44	44	44	43	45	43
	Ecart type	3,25	3,3	3,1	2,9	2,7	4,1
Hb	Moyenne	14,2	14,2	14,3	14,0	14,4	14,6
g/100 ml	Ecart type	1,16	1,18	1,45	0,5	1,07	1,05
Absorption de O ₂	Moyenne	465	518	203	585	174	509
µl par heure et par g Hb	Ecart type	156	89	60	53	54	59
G-6 PD	Moyenne	61	77	2,6	64	6,2	87
AD ₃₄₀ sur 5 minutes pour +0,1 g Hb %	Ecart type	35	22	4,4	18,4	8,0	34
Concentration de NaCl à 50 % d'hémolyse	Moyenne	0,402	0,411	0,405	0,397	0,393	0,366
g/100 ml	Ecart type	0,021	0,015	0,016	0,019	0,022	0,022

% du total

Sujets carencés en G-6 PD	20
AA	66
AS	25
AC	9

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allison, A. C. & Clyde, D. F. (1961) Malaria in African children with deficient erythrocyte glucose-6 phosphate dehydrogenase. Brit. med. J., 1, 1346
- Allison, A. C., Charles, L. J. & McGregor, I. A. (1961) Erythrocyte G-6 phosphate dehydrogenase deficiency in West Africa. Nature (Lond.), 190, 1198
- Allison, A. C. (1963) Malaria and glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency. Nature (Lond.), 197, 609
- Carson, P. E. et al. (1956) Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. Science, 124, 484
- Dacie, J. V. (1956) Practical Haematology, 2nd ed., London, p. 95
- Dawson, J. P., Thayer, W. W. & Desforges, J. F. (1958) Acute hemolytic anaemia in the newborn infant due to naphthalene poisoning: report of two cases with investigations into the mechanism of the disease. Blood, 13, 1113
- Denstedt, O. F. (1953) Enzymology of the erythrocyte. In: Tullis, J., ed. Blood Cells, New York, p. 197
- Gilles, H. M. & Taylor, B. G. (1961) The existence of the glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency trait in Nigeria and its clinical implications. Ann. trop. Med. Parasit., 55, 64
- Harris, R. & Gilles, H. M. (1961) Glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency in the peoples of the Niger Delta. Ann. hum. Genet., 25, 199
- Harrop, G. A. & Barron, E. S. G. (1928) Studies on blood cell metabolism II. J. exp. Med., 48, 207
- Hochwald, R. S., Arnold, J., Clayman, C. B. & Alving, A. S. (1952) Studies of primaquine. IV. Toxicity of Primaquine in negroes. J. Amer. med. Ass., 149 1568
- Hunt, J. A. & Ingram, V. M. (1958) Nature (Lond.), 181, 1062
- Kidson, C. & Gorman, J. G. (1962) A challenge to the concept of selection by malaria in glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency. Nature (Lond.), 196, 49
- Marks, P. A., Johnson, A. B., Hirschberg, E. & Banks, J. (1958) Studies on the mechanism, of aging of human red blood cells. Ann. N.Y. Acad. Sci., 75, 95
- Motulsky, A. G. (1961) Glucose-6 phosphate dehydrogenase deficiency, haemolytic disease of the newborn, and malaria. Lancet, 1, 1168
- Murphy, J. R. (1960) Erythrocyte metabolism. II. Glucose metabolism and pathways. J. Lab. clin. Med., 55, 286
- Umbreit, W. W. et al. (1957) Manometric Techniques, édition révisée, Minneapolis

FIG. 1

DISTRIBUTION DES VALEURS DE L'ACTIVITÉ DE LA G-6 PD ÉRYTHROCYTAIRE
CHEZ 100 NIGÉRIENS ET 100 NIGÉRIENNES ADULTES

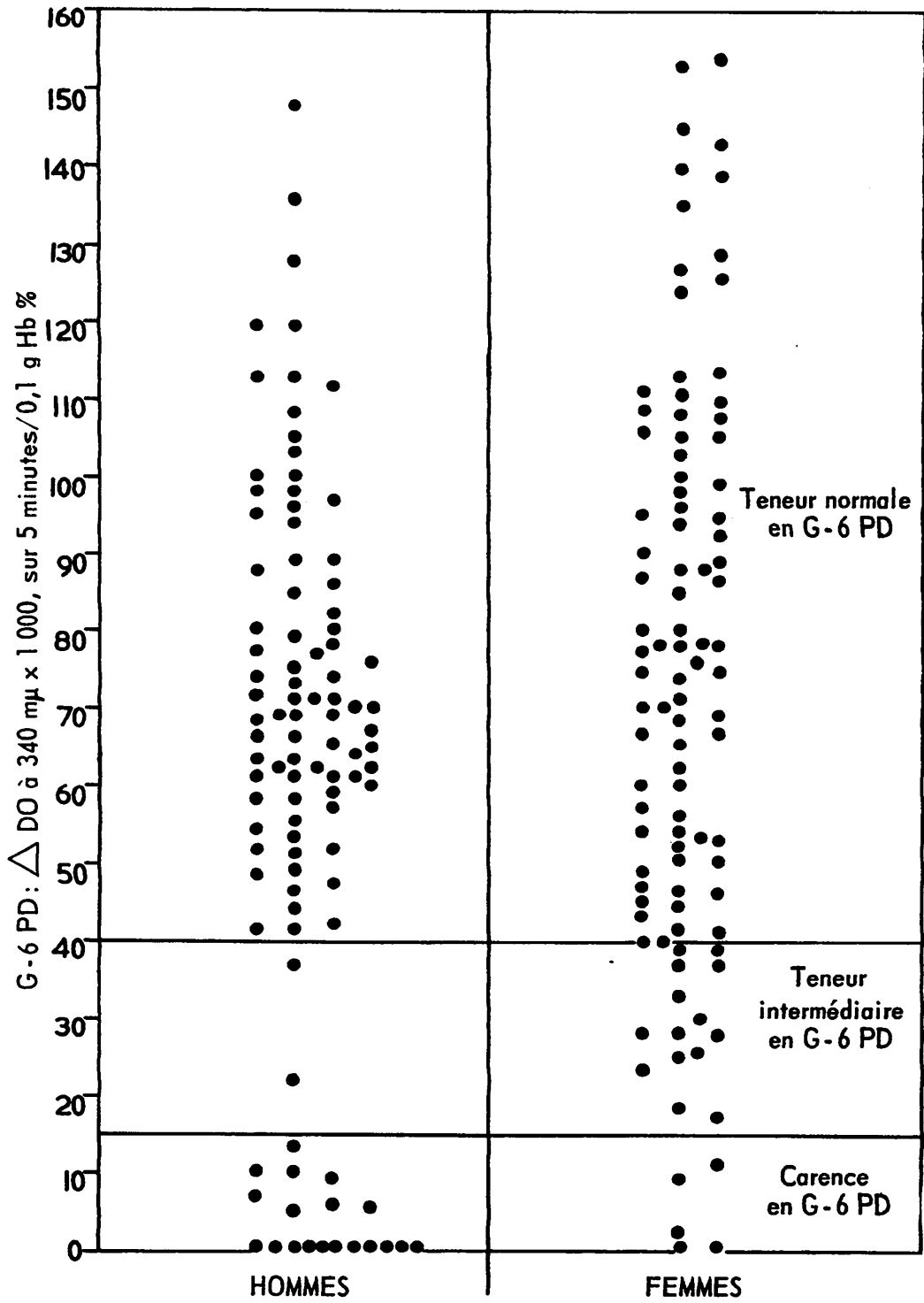


FIG. 2

ABSORPTION DE O₂ ET ACTIVITÉ DE LA G-6 PD ÉRYTHROCYTAIRE CHEZ LES HOMMES

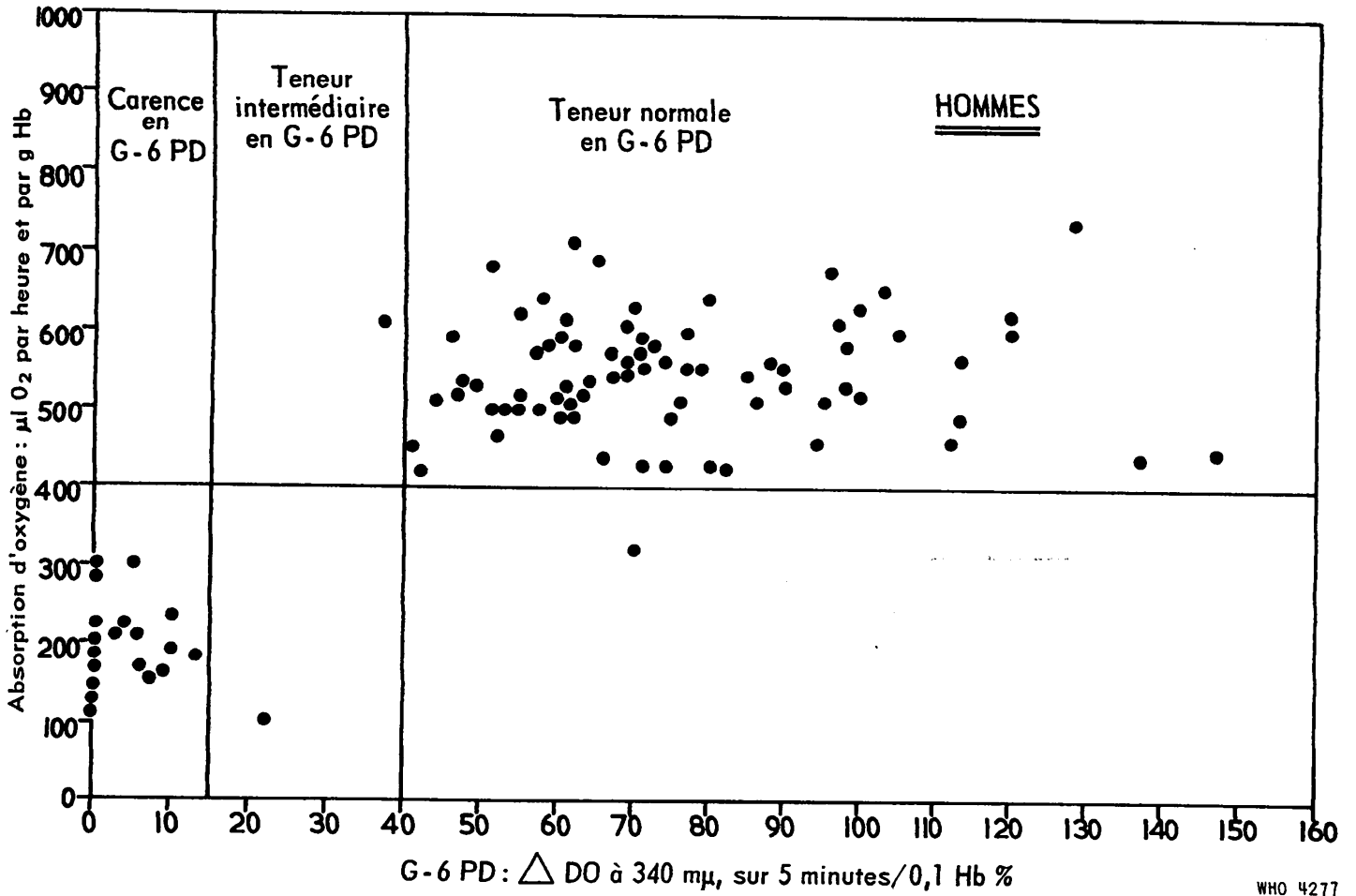
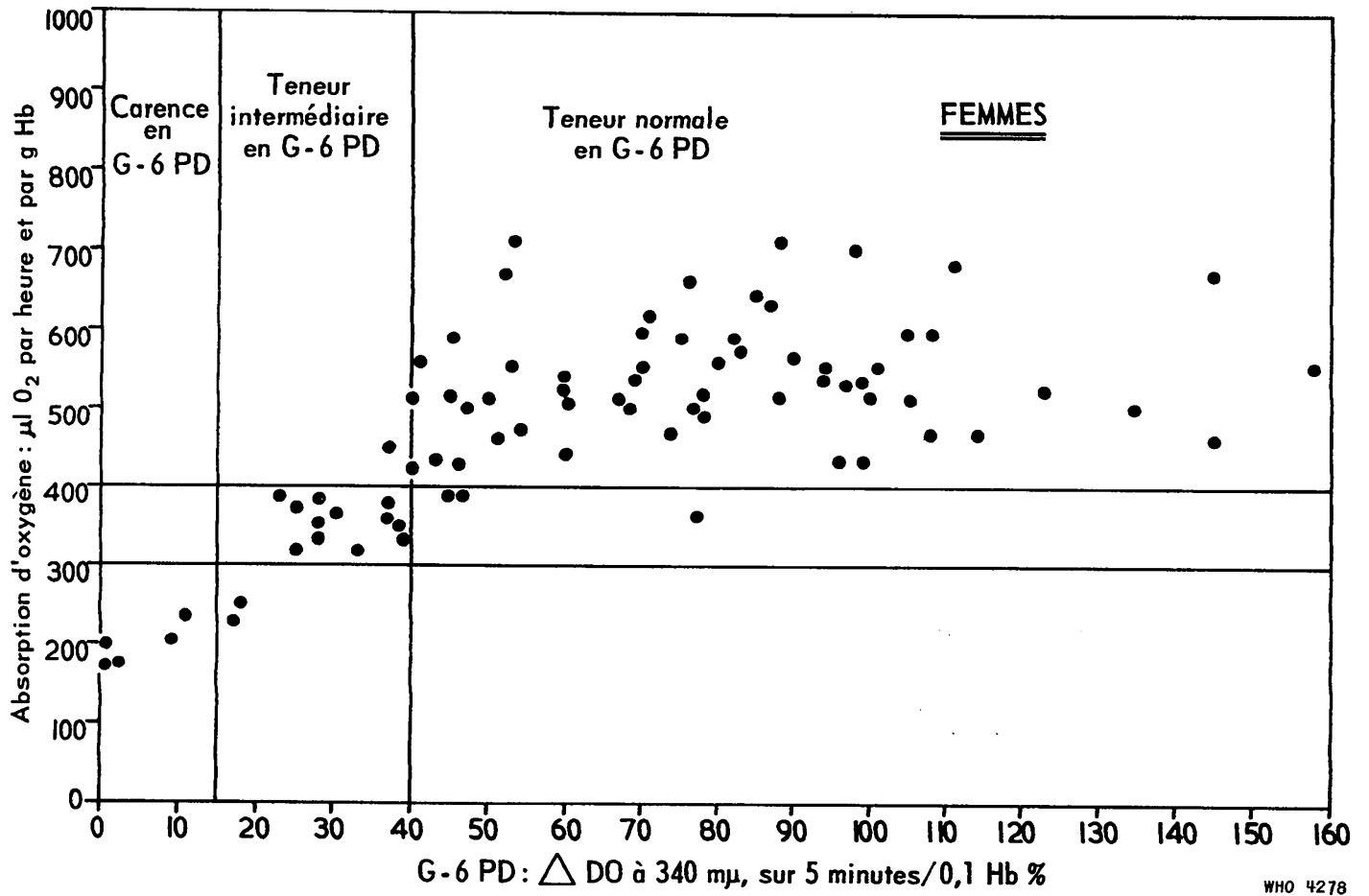


FIG. 3

ABSORPTION DE O₂ ET ACTIVITÉ DE LA G-6 PD ÉRYTHROCYTAIRE CHEZ LES FEMMES



Le but des documents de la série WHO/Mal est le suivant :

- a) mettre le personnel de l'OMS, les instituts nationaux, les chercheurs et les travailleurs de la santé publique au courant de l'évolution des recherches sur le paludisme et des progrès de l'éradication du paludisme au moyen d'exposés succincts relatifs à quelques problèmes en cause;
- b) distribuer, aux catégories de lecteurs indiquées ci-dessus, les rapports d'opérations et autres communications qui présentent un intérêt particulier, mais qui ne sont pas normalement imprimés dans les publications de l'OMS;
- c) communiquer aux intéressés différents articles qui sont destinés à la publication mais qui, en raison de leur actualité, méritent d'être rapidement connus.

La parution d'un article dans cette série ne constitue donc pas une publication officielle et un tel article peut donc, avec l'accord de l'auteur et de l'OMS, être publié dans un périodique de l'OMS ou ailleurs.

Les articles signés n'engagent que leurs auteurs. La mention des manufactures et des produits commerciaux n'implique pas que ces maisons ou leurs produits soient recommandés ou approuvés par l'Organisation mondiale de la Santé de préférence à d'autres.