

Section F : Hématologie / Haematology

Hyperfibrinogénémie et déficit en protéine S au cours de la drépanocytose homozygote (SS).

Hyperfibrinogenemia and protein S deficiency in homozygous sickle cell disease (HCS).

Coly MN¹, Makalou D², Dramé A³, Sall AF^{4,6}, Touré Fall AO, Diop S.^{5,6}

1- Université Assane Seck de Ziguinchor, unité de formation et de recherche en sciences de la santé

2- Université Gaston Berger, unité de formation et de recherche en sciences de la santé

3- Laboratoire d'analyses hôpital d'enfants de Diamniadio.

4- Laboratoire d'hématologie de l'hôpital Aristide le Dantec

5- Centre national de transfusion sanguine du Sénégal

6- Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto stomatologie

Draft à
corriger

Section D : Biochimie

Rubrique : Article original

Résumé

Introduction :

La drépanocytose se caractérise par une anomalie structurale de l'hémoglobine responsable d'un processus de polymérisation en situation de désoxygénation. Plusieurs études ont décrit la drépanocytose comme un état inflammatoire chronique et thrombotique. Parmi les anomalies décrites nous pouvons citer une diminution de l'antithrombine III, de la protéine C et de la protéine S et une augmentation du fibrinogène. L'objectif de notre étude était de vérifier si l'hyperfibrinogénémie était responsable du déficit en protéine S chez le drépanocytaire homozygote.

Patients et méthode : Nous avons évalué l'impact de l'hyperfibrinogénémie sur les taux de protéine S au cours de la drépanocytose SS à l'état stable en réalisant une étude sur cinquante drépanocytaires homozygotes (SS) et cinquante drépanocytaires hétérozygotes (AS).

Des prélèvements sur tube citraté ont été effectués chez tous les patients en vue de la détermination du fibrinogène et de la protéine S.

Résultats : L'âge moyen des patients était de 26 ans (extrêmes de 15 à 42 ans). Le sexe féminin était le plus représenté (sex ratio = 0.35). Une hyperfibrinogénémie a été observée chez 28 % des homozygotes (n=14) et 10% des hétérozygotes (n=5). Le déficit en protéine S a été retrouvé chez 52 % (n=26) des homozygotes et chez % (n=7) des hétérozygotes. La corrélation entre hyperfibrinogénémie et déficit en protéine S n'a pas été établie chez les homozygotes (p= 0, 817 et coefficient de corrélation R= 0.068.)

Conclusion : Le déficit en protéine S chez les homozygotes dans notre étude n'avait pas une origine inflammatoire.

Mots clés : Drépanocytose SS, hyperfibrinogénémie, protéine S, Déficit, corrélation.

Summary

Introduction : Sickle cell anemia is characterized by a structural abnormality of hemoglobin responsible for a polymerization process in a deoxygenation situation.

Several studies have described sickle cell anemia as a chronic, thrombotic inflammatory condition. Among the anomalies described we can cite a decrease in antithrombin III, protein C and protein S and an increase in fibrinogen. The objective of our study was to verify whether hyperfibrinogenemia was responsible for protein S deficiency in homozygous sickle cell disease.

Patients and methods: We assessed the impact of hyperfibrinogenemia on protein S levels during stable SS sickle cell disease by performing a study on fifty homozygous sickle cell disease (SS) and fifty heterozygous sickle cell disease (AS) patients.

Citrated tube samples were taken from all patients to determine fibrinogen and protein S.

Results : The average age of the patients was 26 years with extremes from 15 to 42 years. The female sex was the most represented (sex ratio = 0.35). Hyperfibrinogenemia was observed in 28% of homozygotes (n = 14) and 10% of heterozygotes (n = 5). Protein S deficiency was found in 52% (n = 26) of homozygotes and in % (n = 7) of heterozygotes. The correlation between hyperfibrinogenemia and protein S deficiency has not been established in homozygotes (p = 0.817 and correlation coefficient R = 0.068.)

Conclusion: The protein S deficiency in our study did not have an inflammatory origin.

Keywords: Sickle cell anemia, hyperfibrinogenemia, protein S, Deficit, correlation.

Correspondance : Docteur Mame Ngoné Coly

UFR- 2S, université Assane Seck de Ziguinchor

Tél. : +221 77 656 62 71 - m.coly@univ-zig.sn

INTRODUCTION

La drépanocytose homozygote est une maladie génétique caractérisée par un état pro thrombotique et inflammatoire [1]. L'inflammation chronique s'accompagne d'une baisse des concentrations en protéines S et C par l'activation des neutrophiles et l'effet de ceux-ci sur la cellule endothéliale [2]. Des études ont montré le lien étroit entre coagulation sanguine et réaction inflammatoire [3,4]. Le fibrinogène acteur intervenant dans le processus d'hémostase est aussi un marqueur de l'inflammation chronique [5]. Plusieurs études ont montré une élévation du fibrinogène au cours des complications aiguës et chroniques de la drépanocytose [6,7]. Des études sont allées plus loin en corrélant l'inflammation chronique au déficit en protéines de la coagulation [8].

L'objectif de ce travail était de vérifier si l'hyperfibrinogénémie chronique pouvait avoir de l'influence sur les taux de protéine S au cours de cette pathologie.

METHODES

► Cadres d'étude :

Notre étude a eu pour cadres les services d'hématologie clinique de l'Hôpital Aristide Le Dantec et du Centre national de transfusion pour le recrutement des

patients ainsi que le laboratoire d'hématologie de l'hôpital Aristide Le Dantec pour le dosage des paramètres biologiques.

► Type d'étude :

Nous avons réalisé une étude descriptive comparative sur une période de 9 mois : Aout 2013 à Avril 2014.

► Patients :

Nous avons recruté cinquante (50) sujets drépanocytaires homozygotes (SS) et cinquante (50) drépanocytaires hétéozygotes (AS). Nous n'avons pas calculé la taille de l'échantillon mais nous nous sommes référés à des études réalisées sur le même sujet et dont la moyenne des échantillons tournait autour de 89 patients.

► Critères d'inclusion :

Seuls les patients drépanocytaires stables n'ayant pas été transfusés dans les cent vingt (120) jours ayant précédé le recrutement ont été inclus dans l'étude.

► Critères de non - inclusion :

Tout drépanocytairé ayant fait l'objet d'une crise dans les 120 jours.

► Dosage de l'activité anticoagulante de la protéine S.

Il s'agit d'un dosage chronométrique qui a été effectué sur un automate d'hémostase du laboratoire pharmaceutique de fabrication de réactifs de

diagnostic STAGO basé en France. STA compact™

Le principe repose sur l'activité cofacteur de la protéine S potentialisant l'activité anticoagulante de la protéine C activée objectivée par l'allongement du temps de céphaline + activateur d'un système enrichi en facteur Va, substrat naturel de cet inhibiteur.

Les réactifs utilisés étaient :

- Staclotprotein S® contenant du plasma humain lyophilisé dépourvu de protéine S.
- De la protéine humaine activée lyophilisée.
- De la préparation contenant du facteur Va bovin lyophilisée : Cacl2, OwrenKoller® Unicalibrator®
- Contrôle normal et pathologique (N® et P®).

L'étalonnage a été réalisé à l'aide de l'unicalibrator® par l'automate.

Les plasmas à tester et les contrôles ont été utilisés purs. Les dilutions en tampon OwrenKoller® ont été automatiquement effectuées. Les contrôles étaient nécessaires pour vérifier la reproductibilité et l'exactitude des résultats. Les valeurs étaient validées si elles se situaient dans la fourchette établie par le laboratoire.

Les résultats de taux de protéine S s'affichaient en pourcentage et les valeurs usuelles étaient supérieures à 48%.

► **Dosage du fibrinogène :**

il a été effectué selon la méthode chronométrique de Clauss.

Il s'agissait du temps de coagulation d'un plasma citraté dilué qui est directement fonction du taux de fibrinogène plasmatique en présence de fortes concentrations de thrombine calcique.

Les réactifs suivant des laboratoires de Diagnostica Stago de France ont été utilisés sur un automate de coagulation STA compact™ du même fabricant.

- STA Fibrinogène® précalibré contenant de la thrombine calcique (80 NIH/ ml) humaine ;
- Solution tampon OwrenKoller® utilisée pour les dilutions de plasma par l'automate système de contrôle N® et P®.

Les valeurs usuelles étaient comprises entre 2 et 4g/l.

► **Considérations éthiques :**

Tous les patients inclus dans l'étude l'ont été après remplissage d'une fiche de consentement éclairé.

► **Analyses statistiques :**

L'ensemble des données a été analysé avec le logiciel SPSS. Nous avons utilisé le test du CHI 2 pour calculer les p-values et le test de corrélation de Pearson pour mesurer la corrélation entre l'hyperfibrinogénémie et le déficit en protéine S. Nous avons considéré comme significatif un seuil $p < 0,05$ et un coefficient de corrélation de Pearson > 0.5 .

RESULTATS

► Patients

L'âge moyen de nos patients était de 26 ans avec des extrêmes de 15 et 42 ans.

Le sexe féminin représentait 74 % contre 26 % pour le sexe masculin : sex ratio = 0,35 (Tableau I).

► Taux de fibrinogène :

Le taux moyen de fibrinogène était de 3,65g/l chez les SS avec des extrêmes de 2,19 g/l et 6,71g/l (écart-type = 3,19) et de 3,33 g/l chez les AS avec des extrêmes de 2,12 g/l et 5,99g/l (écart-type = 2.73).

Les hyperfibrinémies étaient marqués chez les patients drépanocytaires SS avec 28 % (n = 14) contre 10 % chez les AS (n = 5). (Tableau II).

► Taux de protéine S :

Les taux moyens de protéine S étaient de 42.86% chez les SS avec des extrêmes de 0 % à 106 % (écart—type = 44.19) et 79.12% chez les AS avec des extrêmes de 17 % à 100 % (écart-type= 58.68) .

Les déficits étaient plus prononcés chez les drépanocytaires SS avec 52 % (n = 26) contre 14% chez les ASC (n = 7) (Tableau III).

Tableau I : Répartition des patients selon le sexe.

Fréquences	AS		SS	
	absolue	relative	absolue	Relative
Féminin	31	62%	43	86%
masculin	19	38%	07	14%

Tableau II : Répartition des patients selon le taux de fibrinogène

Fréquences	AS		SS	
	absolue	relative	absolue	Relative
Taux normal	45	90%	36	72%
hyperfibrinémie	5	10%	14	28%
TOTAL	50	100%	50	100%

► **Corrélation entre l'hyperfibrinogénémie et le déficit en protéine S :** voir tableaux IV et V.

► **Coefficient de corrélation entre hyperfibrinogénémie et déficit en protéine S :** voir figures 1 et 2.

Tableau III : Répartition des patients selon le taux de protéine S

Fréquences	AS		SS	
	absolue	relative	absolue	Relative
Déficits	7	14%	26	52%
Taux normal	43	86%	24	48%
TOTAL	50	100%	50	100%

Tableau IV : Corrélation hyperfibrinogénémie – déficit en protéine S chez les AS.

Chez les AS	HYPERFIBRINOGENEMIE			P VALUE
	OUI	NON	Total	
Déficit en protéine S	1	6	7	0,0076
	14,3%	85,7%	100,0%	
pas de déficit	6	37	43	100 %
	14 %	86 %	100 %	

Tableau V : Répartition des patients selon le taux de protéine S

Profil SS	HYPERFIBRINOGENEMIE			P VALUE
	OUI	NON	Total	
Déficit en protéine S	14	13	27	0,7914
	51,8%	48,2%	100,0%	
Pas de déficit	2	21	23	100,0%
	8,7%	91,3%	100,0%	

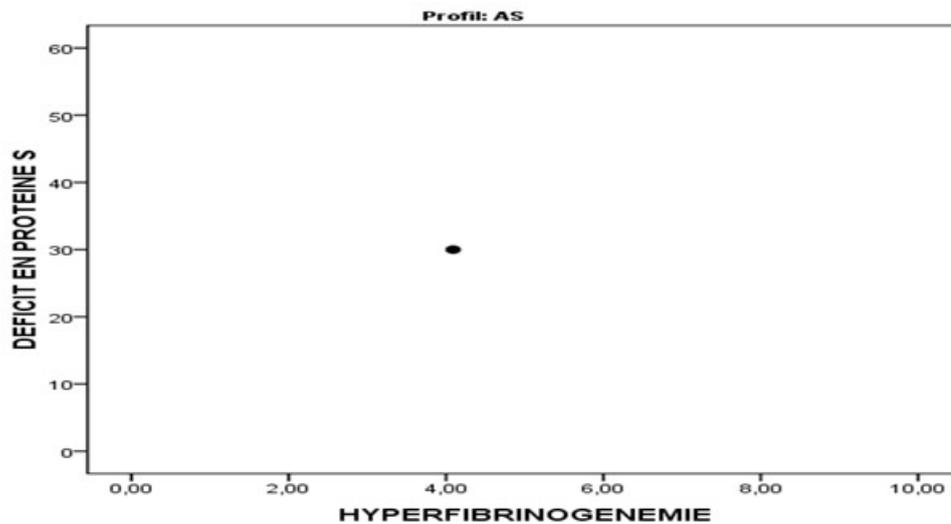


Figure 1 : corrélation entre hyperfibrinogénémie et déficit en protéine S chez les AS.

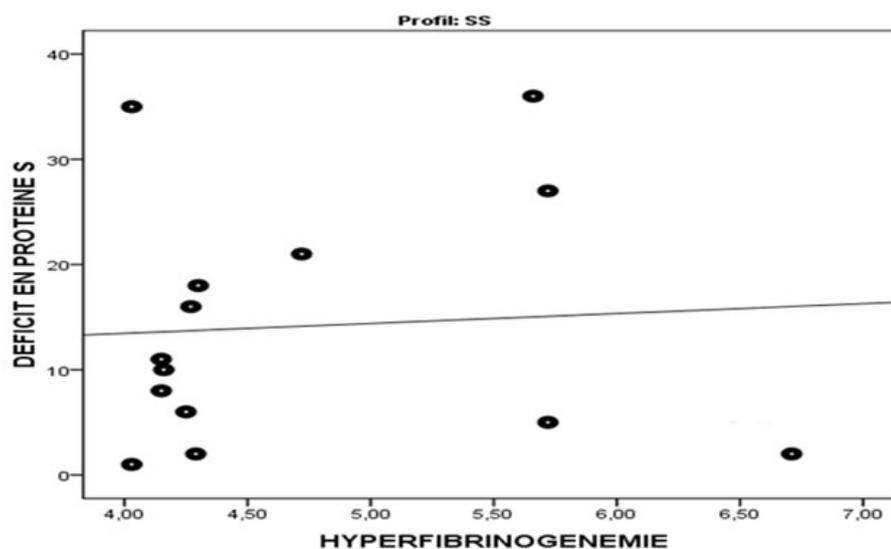


Figure 2 : Corrélation entre hyperfibrinogénémie et déficit en protéine S chez les SS

DISCUSSIONS

La drépanocytose est la maladie génétique la plus fréquente en Afrique et dans le monde [6]. Elle se caractérise par des crises vaso-occlusives et des complications aiguës et chroniques lorsque la prise en charge n'est pas

adéquate [10]. Celles-ci peuvent être prévenues par la recherche de marqueurs biologiques tels que les marqueurs de l'inflammation chronique comme l'hyperfibrinémie et les marqueurs de thromboses comme la baisse des protéines de la coagulation sanguine [10,7].

Nous avons recherché chez les drépanocytaires en phase stationnaire deux marqueurs biologiques importants dans la survenue des complications. Nous avons dosé les taux de fibrinogène et de protéine S chez cent patients drépanocytaires dont cinquante avec un profil hétérozygote (AS) et cinquante avec un profil homozygote (SS). Dans notre étude, l'âge moyen des patients était de 26 ans avec des extrêmes de 15 à 42 ans.

Le sexe féminin était le plus représentatif avec 74 % contre 26 % pour le sexe masculin (sex ratio= 0.35)

Nos résultats sont en phase avec ceux de Diop S et al [11] qui ont rapporté dans leur étude au Sénégal en 2010 un âge moyen de 24.5 ans chez des homozygotes et Bartoluci P et al [12] en 2009 en France qui ont trouvé un sex ratio de 0,5 dans une cohorte de 60 drépanocytaires SS.

Notre étude a permis de déterminer les prévalences de l' hyperfibrinogénémie et du déficit en protéine S chez les drépanocytaires.

Nous avons trouvé en ce qui concerne les déficits en protéine S, 52 % chez les homozygotes et 14% chez les hétérozygotes. Ces résultats sont en phase à ceux de Chekkal M et al [13] en 2015 , qui au cours d'une étude en Algérie ont trouvé des déficits en protéine S chez 53,12 %

des homozygotes (n = 32) et chez 3,44% (n = 29) des hétérozygotes.

L'explication des déficits plus prononcés chez les homozygotes pourrait résider dans le fait que la quantité d'hémoglobine S est plus élevée chez ces derniers [14,15].

Les hyperfibrinogénémies représentaient 28 % chez les homozygotes contre 10% chez les hétérozygotes. Une étude réalisée au Nigéria en 2005 par Buseri. F et al [5] a révélé un taux de fibrinogène plus élevé chez 50 sujets drépanocytaires homozygotes en phase stationnaire comparés aux sujets indemnes de drépanocytose.

L'augmentation des taux de fibrinogène au cours de la drépanocytose a été rapportée par plusieurs études [5].

Les hyperfibrinogénémies étaient plus prononcées chez les homozygotes dans notre étude. Plusieurs études en ont apporté des réponses. Elles estiment que l'inflammation chronique est plus prononcée dans la forme homozygote de la drépanocytose en raison de l'hyper polymérisation plus prononcée par le taux de d'hémoglobine S plus élevé[1].

Les protéines S et C sont des anticoagulants naturels vitamine K dépendants. Le rôle de la protéine S est de moduler l'activité de la protéine C activée afin de limiter l'extension des caillots et promouvoir la fibrinolyse. Plusieurs études ont fait état

de la réduction des inhibiteurs de la coagulation pouvant être à l'origine de crises vaso-occlusives du fait de l'augmentation de la génération de thrombine [14, 16,17]. Les étiologies de cette baisse ne sont pas correctement élucidées mais il semblerait qu'il y'ait une baisse de synthèse associée à une consommation accrue [14,16].

Notre étude a montré qu'il n'ya pas de relation statistiquement significative entre le déficit en protéine S et l'hyperfibrinogénémie chez les SS ($p = 0,817$ et $r = 0,068$).

Puisque près de la moitié de nos patients SS ont eu un déficit en protéine S sans hyperfibrinogénémie, nous avons tenté de trouver une autre explication : les déficits seraient-ils congénitaux ?

Le rôle de l'hérédité dans la survenue de thromboses chez les drépanocytaires homozygotes a été abordé par plusieurs auteurs.

Chekkal M et al [14], au cours d'une étude réalisée en Algérie en 2015, ont retrouvé des taux de protéines S et C plus bas chez les drépanocytaires homozygotes comparés aux hétérozygotes. En essayant de trouver une explication pour l'origine de ces déficits, ils ont conclu que ceux-ci ne pouvaient avoir une origine congénitale mais acquise due à l'élévation des facteurs qui concourent à la génération de thrombine (hyperfibrinémie,

élévation de la C reactive protein, du facteur tissulaire, du facteur VIII, forte expression des molécules d'adhésion...). Nous n'avons pas trouvé d'études corrélant la survenue d'hyperfibrinogénémie chez le drépanocyttaire homozygote au déficit congénital en protéine S. Nous espérons une part congénitale des déficits en protéine S chez les drépanocytaires SS.

CONCLUSION

Plusieurs études ont décrit la drépanocytose comme un état inflammatoire chronique et thrombotique. Nous avons pu avec la nôtre, montrer que le déficit en protéine S, un anticoagulant naturel, n'était pas fonction de l'hyperfibrinogénémie au cours de cette pathologie. Nos résultats nous poussent à considérer qu'il faille faire une étude avec un échantillon plus grand pour déterminer les facteurs infra cliniques et biologiques du déficit en protéine S chez le drépanocyttaire.

REFERENCES

1. **Renaudier P.** Physiopathologie de la drépanocytose. *Transfus Clin Biol.*2014;21(4-5):178-181.
2. **Marcombes C, Lafont E, Jullien V, Flamarion E, Dion J, Costedoat-Chalumeau N, et al.** Complications du trait drépanocyttaire : à propos d'une série de 6 cas. *Rev Médecine Interne* [Internet]. 4 août 2020 [cité le 10 août 2020]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0248866320302150>.

3. **Levi M, van der Poll T.** Inflammation and coagulation. *Crit Care Med.*2010;38:S26–S34.
4. **Sparkenbaugh E, Pawlinski R.** Interplay between coagulation and vascular inflammation in sickle cell disease. *Br J Haematol.*2013;162(1):3-14.
5. **Buseri FI, Shokunbi WA, Jeremiah ZA.** Plasma fibrinogen levels in Nigerian homozygous (Hb SS) sickle cell patients. *Hemoglobin.* 2007;31(1):89-92.
6. **Badiaga Y.** Drépanocytose et Grossesse. A propos de quarante cinq cas suivis conjointement dans le centre de recherche et de lutte contre la drépanocytose et le service de gynécologie obstétrique du CHU point G à Bamako. 2014 [cité 10 août 2020]; Disponible sur: <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/573>
7. **Guimbi KCM, Kouamé EK, Azougagh K, Réa D, Mfam WS.** Crises vaso-occlusives multiples et HELLP syndrome chez une patiente drépanocytaire hétérozygote SC. *Anesthésie - Réanimation.* 2015;1(3):256–258.
8. **El-Hazmi MA, Warsy AS, Bahakim H.** Blood proteins C and S in sickle cell disease. *Acta Haematol.*1993;90(3):114–119.
9. **Piccin A, Murphy C, Eakins E, Kinsella A, Mc Mahon C, Smith OP, et al.** Protein C and free protein S in children with sickle cell anemia. *Ann Hematol.* 2012;91(10):1669–1671.
10. **Kossorotoff M.** Approche physiopathologique et recherche de biomarqueurs associés aux complications neurovasculaires chez l'enfant drépanocytaire [Internet] [phdthesis]. Université René Descartes - Paris V; 2014 [cité 27 juin 2020]. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01138455>.
11. **Diop S, Soudré F, Seck M, Guèye YB, Diéye TN, Fall AOT, et al.** Sickle-cell disease and malaria: evaluation of seasonal intermittent preventive treatment with sulfadoxine-pyrimethamine in Senegalese patients - a randomized placebo-controlled trial. *Ann Hematol.*2011;90(1):23–27.
12. **Bartolucci P, Habibi A, Stehlé T, Di Liberto G, Rakotoson MG, Gellen-Dautremer J, et al.** Six months of hydroxyurea reduces albuminuria in patients with sickle cell disease. *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(6):1847–1853.
13. **Chekkal M, Rahal MCA, Moulasserdoun K, Seghier F.** Increased level of factor VIII and physiological inhibitors of coagulation in patients with sickle cell disease. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2017;33(2):235–238.
14. **Wautier J-L, Wautier M-P.** Bases moléculaires de l'adhérence des globules rouges à l'endothélium. In: *Annales Pharmaceutiques Françaises.* Elsevier, Ville ? 2011; Tome ? :3-6.
15. **Westerman MP, Green D, Gilman-Sachs A, Beaman K, Freels S, Boggio L, et al.** Coagulation changes in individuals with sickle cell trait. *Am J Hematol.*2002;69(2):89-94.
16. **Kossorotoff M.** Approche physiopathologique et recherche de biomarqueurs associés aux complications neurovasculaires chez l'enfant drépanocytaire [PhD Thesis]. 2014. Ville ? N°?
17. **Steinberg MH.** Genetic aetiologies for phenotypic diversity in sickle cell anemia. *Scientific World Journal.*2009;9(N°):pages ??