

STANLEYVILLE II, UNE VARIANTE DE L'HEMOGLOBINE A CHAINES α ANORMALES FREQUENTE DANS LE NORD DU ZAÏRE.

A PROPOS DE CAS DE SICKLANEMIE PRESENTANT LES HEMOGLOBINES S ET STANLEYVILLE II/S

par

G. VAN ROS

Résumé — Les données acquises depuis 1959 concernant l'hémoglobine Stanleyville II sont décrites : distribution géographique et ethnique, propriétés permettant son identification, détermination de son anomalie moléculaire, caractéristiques génétiques et hématologiques des porteurs; d'autres variantes de l'hémoglobine qui présentent avec elle une similitude en ce qui concerne la localisation de l'anomalie moléculaire (hémoglobine J Singapore) ou la nature de celle-ci (hémoglobines G Philadelphia et Stanleyville I) sont mentionnées.

La substitution d'acide aminé caractéristique de l'hémoglobine Stanleyville II est située en position $\alpha 78$ (EF7), où un résidu d'asparagine est remplacé par un résidu de lysine. C'est l'anomalie de l'hémoglobine qui jusqu'à présent a été décelée le plus fréquemment chez des autochtones du Zaïre, à l'exception de l'hémoglobine S, qui est de loin la plus répandue; elle a été trouvée présente avec cette dernière chez certains sujets au Zaïre et en Uganda; les hétérozygotes pour ces deux mutations présentent quatre hémoglobines principales, dont le mutant hybride Stanleyville II/S ($\alpha_2^{78\text{lys}} \beta_2^{6\text{val}}$); deux sujets combinaient l'état hétérozygote pour la variante Stanleyville II avec l'état homozygote pour la variante S: le syndrome drépanocytaire qu'ils présentaient est décrit.

Le mode de ségrégation des mutations Stanleyville II et S dans une famille du Zaïre est en faveur de la localisation des loci Hb α et Hb β sur des paires chromosomiques différentes. Certaines caractéristiques des porteurs de ces mutations indiquent que l'anomalie Stanleyville II pourrait être liée à l' α -thalassémie, comme cela a été suggéré pour certaines autres variantes de l'hémoglobine à chaînes α anormales.

KEYWORDS : Haemoglobin Stanleyville II; Haemoglobin S; Sick cell anaemia; Zaïre Republic.

Mentionnée pour la première fois en 1959, l'hémoglobine Stanleyville II a depuis lors été retrouvée à diverses reprises dans le Nord du Zaïre et en Uganda. Il se pourrait qu'elle soit au Zaïre la plus répandue des

variantes de l'hémoglobine décelables par des procédés de laboratoire courants, l'hémoglobine S mise à part; c'est en tout cas après cette dernière celle qui a été décelée le plus fréquemment. Or, jusqu'à présent chez des nationaux de ce pays. Les observations faites sur cette hémoglobine anormale et sur les sujets porteurs ont permis de préciser dans une certaine mesure sa répartition géographique et ethnique, de déterminer son anomalie moléculaire et les caractéristiques pouvant contribuer à son identification, ainsi que d'étudier son mode de transmission héréditaire et les anomalies que présentent les porteurs. Trouvée en combinaison avec l'hémoglobine S chez certains individus, elle provoque dans ce cas des anomalies hématologiques particulières : les adultes hétérozygotes pour les deux variantes S et Stanleyville II présentent en effet un phénotype d'hémoglobines atypique comportant quatre hémoglobines principales au lieu d'une seule, tandis que les sujets qui combinent état homozygote pour l'hémoglobine S et état hétérozygote pour l'hémoglobine Stanleyville II souffrent d'une sicklanémie due à la présence dans leurs hématies de deux hémoglobines S différentes dont l'une présente des chaînes polypeptidiques α normales et l'autre les chaînes α anormales caractéristiques de l'hémoglobine Stanleyville II. De plus, comme certaines autres variantes à chaînes α anormales, Stanleyville II paraît présenter une liaison génétique (« linkage ») avec l' α -thalassémie. Mentionnée initialement dans ces Annales (Vandepitte et Dherte, 1959), la variante Stanleyville II a fait l'objet depuis lors dans d'autres périodiques de diverses publications. Le présent article résume de manière systématique les données acquises à son propos aux points de vue géographique, ethnique, biochimique, génétique, hématologique et clinique.

Les sources disponibles sont les suivantes :

1° En 1959 Vandepitte et Dherte rapportent les résultats d'une recherche systématique de variantes de l'hémoglobine faite par électrophorèse chez les femmes fréquentant une consultation prénatale à Kisangani (ex-Stanleyville). Deux variantes non encore décrites sont découvertes qui migrent approximativement comme l'hb S à l'électrophorèse sur papier, mais ne provoquent pas la falciformation chez les porteurs : elles sont dénommées hémoglobines Stanleyville I et II. Le porteur de la variante Stanleyville II (hb Sta-II) est originaire du nord-est du Zaïre.

2° Toujours en 1959, Dherte *et al.* caractérisent l'hb Sta-II par sa mobilité électrophorétique, sa migration à la chromatographie en résine Amberlite à pH 6 et sa solubilité. Ces données permettent de l'identifier par les moyens disponibles à l'époque. Outre le cas signalé dans l'enquête précédente, cette publication signale la découverte de trois autres porteurs : une fille du cas précédent ainsi qu'un garçon de 8 ans et sa mère, originaires de l'Uélé.

3° En 1964 une famille ugandaise comportant de nombreux porteurs d'une variante présentant toutes les caractéristiques de l'hb Sta-II connues à l'époque est décrite par Hall-Craggs *et al.* Cette famille est originaire de la région West-Nile, jouxtant l'Ituri (Zaïre) et le Soudan. L'étude de la variante montre que celle-ci présente son anomalie moléculaire dans les chaînes α . Le « fingerprinting » de la molécule après hydrolyse trypsique

montre la présence d'un peptide anormal, mais l'état des échantillons ne permet pas de préciser l'anomalie des chaînes mutantes. Le propositus, âgé de trois ans, présente un syndrome sicklanémique dû à la présence de deux hémoglobines S, l'une à chaînes α normales, l'autre à chaînes α mutantes, ce qui correspond à l'état homozygote pour l'hb S combiné à l'hétérozygotisme pour l'hb Sta-II. Sa mère, un frère et sept autres membres de cette famille sont hétérozygotes doubles pour les deux tares et présentent quatre hémoglobines principales, dont trois anormales : l'hb A, l'hb S, l'hb Sta-II et l'hybride Sta-II/S.

4° En 1968 l'hb Sta-II est trouvée à nouveau au cours de l'examen hématologique d'une jeune fille âgée de 17 ans originaire de l'Uélé (Zaïre), hospitalisée à Anvers pour bilharziose et filariose (Van Ros *et al.*, 1968). L'identification fut obtenue par divers procédés électrophorétiques, par chromatographie en résine Amberlite et par hybridation avec l'hémoglobine canine. Le « fingerprinting » après hydrolyse trypsique montra l'absence du peptide normal α^{AIX} et son remplacement par deux nouveaux peptides. L'analyse des aminoacides constitutifs de ces derniers démontra le remplacement en position α^{78} (EF7) d'un résidu neutre d'asparagine par un résidu positif de lysine; ce dernier constituait un point d'attaque supplémentaire pour l'hydrolyse par la trypsine, d'où la scission du peptide α^{IX} en deux nouveaux peptides. L'énigme de l'anomalie moléculaire de l'hb Sta-II ($\alpha_2^{\text{ASP}} \rightarrow \text{lys} \beta_2$) était de ce fait éclaircie à partir d'un cas importé en Belgique.

5° En 1973 une nouvelle famille du Zaïre comportant des porteurs de l'hb Sta-II a été décrite (Van Ros *et al.*); des membres appartenant à deux générations successives ont été examinés : certains d'entre eux combinaient les variantes Sta-II et S. Cette famille appartenait à une ethnie non-bantoue localisée le long de l'Uélé, aux confins des Provinces Orientale et de l'Equateur. Le propositus, âgé de 7 ans, était hospitalisé à la clinique pédiatrique de l'Université Lovanium pour un syndrome drépanocytaire relativement bénin dû à la combinaison des états homozygote pour l'hb S et hétérozygote pour l'hb Sta-II; la mère et un frère étaient hétérozygotes pour ces deux variantes et présentaient les hémoglobines A, Sta-II, S et Sta-II/S, tandis qu'une sœur était homozygote pour l'hb S et présentait un syndrome falciforme grave.

Le mode de transmission des variantes α et β de l'hémoglobine dans cette famille indique que les loci chromosomiques qui codent pour les chaînes α et β ne sont pas liés : ces variantes y présentent en effet une ségrégation indépendante; quelques autres familles décrites dans la littérature dans lesquelles des variantes α et β coexistent donnent une indication identique, de sorte que le fait que ce mode de ségrégation puisse résulter d'enjambements (« crossing over ») suivis de recombinaisons est pratiquement exclu et que la localisation des loci $\text{Hb}\alpha$ et $\text{Hb}\beta$ sur des paires chromosomiques différentes peut être considérée comme établie.

Les constatations faites chez certains des membres de cette famille paraissent de plus indiquer que la variante Sta-II est, comme d'autres variantes α , en linkage avec l' α -thalassémie, en concordance avec la théorie suivant laquelle chez l'homme, comme dans certaines espèces animales, deux loci chromosomiques et donc quatre gènes codent pour les chaînes α de la globine (Lehmann et Carrell, 1968-1969; Lehmann, 1970).

I. Distribution géographique de l'hémoglobine Stanleyville II origine et ethnique des porteurs

Tous les porteurs connus jusqu'à présent sont originaires du nord des provinces de l'Equateur et Orientale du Zaïre et d'une région avoisinante de l'Uganda. Leurs régions et ethnies d'origine sont, d'ouest en est, les suivantes : 1° Nord-Est de la Province de l'Equateur, village de Yakoma, au confluent de l'Ubanguï et l'Uélé, ethnie Ngbandi, de race et langues soudanaises (Van Ros *et al.*, 1973); 2° Nord de la Province Orientale, Uélé, village de Dakwa, ethnie Zande, non-bantoue d'origine nilotique (Van Ros *et al.*, 1968); 3° Nord-Est de la Province Orientale, Haut-Uélé, ethnie Budu, considérée comme bantoue, mais entourée de tribus nilotiques (Vandepitte et Dherte, 1959; Dherte *et al.*, 1959); 4° Nord-Est de la Province Orientale, Haut-Uélé, ethnie non déterminée; la porteuse était une métisse gréco-africaine originaire d'une région où la population est d'origine mixte bantoue-nilotique (Dherte *et al.*, 1959); 5° Nord-Ouest de l'Uganda, région West-Nile, au nord du lac Albert, ethnie nilotique Alur (Hall-Craggs *et al.*, 1964).

La variante Stanleyville II paraît donc propre à des ethnies non-bantoues d'origine nilotique; elle n'a été trouvée jusqu'à présent que dans le bassin de l'Uélé et immédiatement à l'est de celui-ci dans le bassin du Nil, exclusivement chez des Africains non-bantous ou appartenant à des groupes bantous mélangés d'éléments nilotiques. Il semble donc que la mutation Stanleyville II soit apparue dans une population nilotique et se soit répandue parmi les ethnies voisines et ensuite dans la partie septentrionale du bassin du Zaïre à la faveur des migrations qui ont conduit ces ethnies à s'y établir; il est donc vraisemblable qu'elle puisse encore être trouvée dans les pays voisins habités par des ethnies de même race, par exemple la République Centre-Africaine, le Soudan et l'Ethiopie. Une connaissance plus précise de sa répartition géographique et ethnique pourrait éventuellement constituer un apport intéressant à l'ethnologie africaine.

Dans sa zone connue de distribution du nord du Zaïre et du nord-ouest de l'Uganda, la mutation Stanleyville II paraît fréquente, puisqu'elle y a été trouvée à cinq reprises depuis 1959, dont quatre fois sans enquête systématique et une fois chez une émigrée en Belgique; c'est en tout cas la variante de l'hémoglobine la plus fréquemment décelée jusqu'à présent chez des autochtones zaïrois, abstraction faite bien entendu de l'hémoglobine S; une trentaine d'hétérozygotes ont au total été trouvés jusqu'à présent. De plus dans deux de ces familles plusieurs sujets combinaient les variantes Sta-II et S et donc une anomalie α et une anomalie β , avec formation de globines « hybrides » à double anomalie (Hall-Craggs *et al.*, 1964; Van Ros *et al.*, 1973). La famille trouvée au Zaïre est la seule rapportée jusqu'à présent chez des ressortissants de ce pays qui comporte des porteurs de ce type de combinaison génétique, dont une douzaine d'exemples seulement ont été décrits depuis la première observation de ce genre faite en 1958 par Smith et Torbert (*).

(*) L'hémoglobine Stanleyville II vient d'être trouvée chez un sujet appartenant à une famille alsacienne, dont les ascendants, connus depuis deux siècles, sont des caucasiens. Il s'agit donc vraisemblablement d'une mutation indépendante (North et Lehmann, communication personnelle).

II. Anomalie moléculaire de l'hémoglobine Stanleyville II

1. L'anomalie de l'hb Sta-II est située dans les chaînes α de la globine

Tous les porteurs de l'hémoglobine Sta-II présentent une hémoglobine A₂ supplémentaire de mobilité électrophorétique plus lente que l'hémoglobine A₂ normale à l'électrophorèse en tampons alcalins (Hall-Craggs *et al.*, 1964). Cette particularité, visible dans la figure 1, fait déjà supposer que l'hb Sta-II est une variante de l'hb A dont l'anomalie est située dans les chaînes α , puisque seul ce type de chaîne est commun à toutes les hémoglobines humaines, à l'exception des hémoglobines embryonnaires normales Gower 1 et Portland 1. Ceci est confirmé par les techniques d'hybridation avec l'hémoglobine canine (Hall-Craggs *et al.*, 1964; Van Ros *et al.*, 1968) et avec l'hémoglobine C (Hall-Craggs *et al.*, 1964); ces techniques fournissent en effet des hémoglobines hybrides à chaînes α anormales en provenance de la variante Sta-II et, de plus, dans le cas de la recombinaison avec l'hémoglobine C ($\alpha_2^A \beta_2^C$), de l'hémoglobine A ($\alpha_2^A \beta_2^A$), ce qui n'est possible que si la variante Sta-II présente des chaînes β normales ($\alpha_2^{\text{Sta-II}} \beta_2$). L'électrophorèse des chaînes polypeptidiques séparées par le 2-mercaptoéthanol-urée 6M en provenance d'un drépanocytaire porteur de l'hb Sta-II a d'ailleurs montré la présence simultanée de chaînes α anormales en plus des chaînes α^A et β^S (Van Ros *et al.*, 1973).

2. L'anomalie des chaînes α de l'hb Sta-II consiste en la substitution en position 78 d'un résidu d'asparagine par un résidu de lysine : α_{78} (EF7) asparagine \rightarrow lysine

L'électrophorèse et la chromatographie successives des peptides des chaînes α de la variante Sta-II obtenus par hydrolyse trypsique (fingerprinting) montre l'absence des peptides normaux α IX et α VIII-IX (Van Ros *et al.*, 1968; 1973; figure 2). Ces peptides comprennent respectivement les résidus d'acides aminés α^A 62 à 90 et α^A 61 à 90; ceci indique que l'anomalie est située dans la région 62-90 des chaînes α , dont la structure secondaire est en partie hélicoïdale (partie de la spirale E, zone EF et totalité de la spirale F). Trois peptides anormaux sont présents sur ces électrochromatogrammes : l'un d'entre eux ($\alpha^{\text{Sta-II}}$ IX-a) est situé dans la région anodique et présente des réactions positives pour la méthionine et l'histidine, tandis que l'autre ($\alpha^{\text{Sta-II}}$ IX-b) situé dans la région cathodique, contient de l'histidine mais non de la méthionine. Ces peptides furent élués des chromatogrammes, hydrolysés et leurs constituants déterminés dans un analyseur automatique d'acides aminés. Les résultats indiquèrent que le peptide $\alpha^{\text{Sta-II}}$ IX-b comportait les mêmes résidus d'acides aminés que les douze derniers résidus du peptide normal α^A IX, c'est-à-dire les résidus α^A 79 à 90, comportant deux histidines et pas de méthionine; ceci excluait que l'anomalie soit située dans cette région. L'analyse du peptide $\alpha^{\text{Sta-II}}$ IX-a montra une composition identique à celle des 17 premiers résidus du peptide α IX normal, soit les résidus 62 à 78, dont un d'histidine et un de méthionine, à l'exception d'un acide aspartique en moins et d'une lysine en plus (tableau 1).

TABLEAU 1

Proportions molaires des aminoacides trouvés dans les peptides tryptiques caractéristiques de l'hémoglobine Stanleyville II

(d'après VAN ROS, BEALE et LEHMANN, 1968)

	α IX-a de l'hb Sta-II (trouvé)	α 62-78 de l'hb A (théorique)	α IX-b de l'hb Sta-II (trouvé)	α 79-90 de l'hb A (théorique)
Asparagine (*)	3,9	5	0,9	1
Thréonine	1,1	1	0,1	0
Sérine	0,1	—	2,2	2
Proline	0,9	1	0	0
Alanine	3,8	4	2,9	3
Valine	3,2	3	0	0
Méthionine	0,8	1	0	0
Leucine	1,1	1	3,2	3
Lysine	1,0	0	1,0	1
Histidine	0,9	1	1,9	2
Total	16,8	17	12,2	12

(*) L'asparagine est oxydée en acide aspartique au cours de l'hydrolyse acide.

L'anomalie moléculaire recherchée consistait donc nécessairement dans le remplacement en région α 62-78 d'une lysine par un acide aspartique *ou* par une asparagine (l'asparagine est en effet oxydée en acide aspartique au cours de l'hydrolyse acide). La localisation exacte de la substitution était aisée à préciser : puisque le peptide normal α IX est remplacé par deux autres peptides provenant d'une hydrolyse par la trypsine, qui n'agit qu'au niveau des aminoacides lysine et arginine, la nouvelle lysine devait nécessairement se trouver au point de scission, c'est-à-dire en α 78 où dans les chaînes α normales se trouve effectivement une asparagine. La localisation α 78 est située en 7^e position de la zone non hélicoïdale EF; c'est pourquoi l'anomalie de l'hb Sta-II peut s'exprimer par la formule : α 78 (EF7) asparagine \rightarrow lysine.

Un troisième peptide anormal, positif pour la méthionine est visible sur les fingerprints des chaînes α ^{Sta-II} dans la région des peptides neutres; la présence d'un tel peptide méthionine positif supplémentaire sur les chromatogrammes était attendue du fait de la présence dans les fingerprints de l'hémoglobine normale A d'un peptide α VIII-IX (α ^A61 à 90) qui doit nécessairement être remplacé par un peptide anormal α ^{Sta-II}VIII-IX-a (α ^{Sta-II}61 à 78) puisque l'anomalie de l'hb Sta-II est en position α 78 et que le peptide α ^{Sta-II}IX-a est positif pour la méthionine.

La substitution α 78 asparagine \rightarrow lysine est située dans une région non-hélicoïdale des chaînes α et localisée à la surface de la molécule, à distance des hèmes et des régions de contact avec les autres chaînes polypeptidiques (Perutz 1965; Perutz et Lehmann 1968); ceci permet d'inférer que la stabilité de la molécule, le fonctionnement des hèmes et

l'affinité pour l'oxygène de cette variante ne seront pas directement affectés par cette anomalie et, de fait, aucun symptôme attribuable à une dysfonction de ce genre n'a été constaté chez les porteurs. Il semble néanmoins que la mutation hb Sta-II soit, comme certaines autres variantes α , liée à l' α -thalassémie (voir paragraphe V : expression clinique).

3. L'hémoglobine J Singapore : mutation double α 78 aspartyl; α 79 glycyI ?

Jusqu'à récemment l'hb-Sta-II était la seule variante de l'hémoglobine connue présentant une substitution d'acide aminé en position α 78. En 1972 une autre variante qui comporte deux anomalies successives en positions α 78 et 79 a été trouvée chez des sujets d'origine malaise et décrite sous le nom d'hémoglobine J Singapore; dans cette variante le résidu aspartyl α 78 est remplacé par un résidu aspartyl, tandis qu'en position α 79 un glycyI est substitué à un résidu alanine (Blackwell *et al.*, 1972); la séquence normale -Asn-Ala- des positions α 78 et 79 est ainsi remplacée par une séquence -Asp-Gly-.

La glycine et l'alanine sont des acides aminés neutres, dépourvus de groupe polaire libre; la substitution α 79 Gly \rightarrow Ala n'a de ce fait pas d'expression électrophorétique et les hétérozygotes pour une telle mutation ne devraient apparemment présenter que de l'hémoglobine A. Une modification supplémentaire causant la mobilité électrophorétique élevée de la variante doit nécessairement être présente et, de fait, il a été constaté qu'un résidu d'acide aspartique remplace une asparagine dans la position α 78 adjacente à la première, remplacement que les auteurs qui ont décrit cette hémoglobine supposent dû à une mutation supplémentaire.

En fait cette seconde anomalie semble bien n'être qu'une simple conséquence de la première et non une seconde mutation (Lehmann, 1974). En effet lorsqu'un résidu de glycine précède un résidu d'asparagine dans une chaîne polypeptidique, il rend labile le groupe amide libre de cette dernière, qui s'oxyde en acide aspartique. Il en résulte qu'une substitution Ala \rightarrow Gly dans une séquence -Asn-Ala- est susceptible de donner une séquence -Asp-Gly- au lieu de -Asn-Gly-.

Cette influence de la glycine sur la labilité du résidu d'asparagine qui la précède a été bien démontrée au cours de l'analyse des séquences d'acides aminés de l'élastase pancréatique du porc par Shotton et Hartley (1970); lors de celle-ci une désamidation prononcée des résidus d'asparagine se produit au niveau des quatre séquences -Asn-Gly- que compte cette enzyme, ce qui incite ces auteurs à recommander de n'accepter qu'avec réserve tout résultat paraissant impliquer la présence d'une séquence -Asp-Gly- dans une chaîne polypeptidique.

Ceci a d'ailleurs été confirmé lors de l'examen de la structure de l'hémoglobine C Georgetown, dont le peptide anormal β IX contient la séquence -Asn-Gly- en positions β 73-74; au cours de l'étude de l'anomalie de cette variante il a en effet été constaté que les résidus d'asparagine localisés en β 73 s'oxydent en acide aspartique si des précautions particulières ne sont pas prises, consistant dans l'emploi de NH_4HCO_3 0,1M pour l'élution

du peptide βIX des chromatogrammes, suivi de la lyophilisation des éluats (Lang *et al.*, 1972).

Il semble donc bien que la variante J Singapore résulte d'une mutation unique $\alpha 79$ Ala \rightarrow Gly, mutation qui donne *secondairement* lieu à une deuxième anomalie consistant dans la désamidation du résidu d'asparagine situé en $\alpha 78$ en un résidu d'acide aspartique dans au moins une partie des molécules de la variante.

L'examen des chaînes α de la fraction de l'hémoglobine migrant comme l'hb A des porteurs de la variante permettrait de s'en assurer : la découverte de chaînes anormales $\alpha 78$ Gly dans cette fraction confirmerait que la mutation responsable de la variante est située dans un seul triplet du gène α muté, celui qui code pour la position $\alpha 78$.

La genèse d'une variante qui présenterait deux mutations dans des positions adjacentes pourrait s'expliquer soit par des mutations ayant affecté successivement deux codons voisins du même gène α , soit par l'enjambement de deux chromosomes homologues dont l'un porterait un gène α muté codant pour l'acide aspartique en $\alpha 78$ et l'autre un gène α muté codant pour la glycine en $\alpha 79$. La probabilité pour qu'un de ces deux événements se soit produit est néanmoins très faible; les auteurs qui ont proposé la formule de structure $\alpha 78$ Asp; $\alpha 79$ Gly concèdent d'ailleurs que l'intervention d'un enjambement est peu vraisemblable. L'explication d'un enjambement dans la genèse d'une variante à double substitution dans la même chaîne est beaucoup plus acceptable lorsque les deux substitutions ne sont pas adjacentes et que l'existence de chacune d'elles prise séparément a été démontrée, comme c'est le cas pour l'hémoglobine C Harlem $\beta 6$ Glu \rightarrow Val; $\beta 73$ Asp \rightarrow Asn (Bookchin *et al.*, 1967; Lang *et al.*, 1972) : la substitution $\beta 6$ Glu \rightarrow Val correspond en effet à celle de l'hémoglobine S, tandis que la substitution $\beta 7$ Asp \rightarrow Asn correspond à celle de la variante Korle-Bu (Konotey-Ahulu *et al.*, 1968).

Bref les arguments d'ordre génétique concordent avec les constatations analytiques pour indiquer qu'une mutation unique en position $\alpha 79$ est à l'origine des anomalies de l'hémoglobine J Singapore et que le codon pour la position $\alpha 78$ est normal chez les porteurs.

4. L'hémoglobine G Philadelphia : $\alpha 68$ (E17) Asparagine \rightarrow Lysine

Cette hémoglobine présente une substitution d'acide aminé Asp \rightarrow Lys identique à celle de l'hb Sta-II et localisée comme elle dans le peptide tryptique αIX (Baglioni et Ingram, 1961). Elle fournit de ce fait des fingerprints analogues : disparition des peptides αIX et $\alpha VIII-IX$, remplacement d' αIX par deux peptides. De nombreux exemples de cette variante ont été relevés chez des Noirs d'origine ouest-africaine en Afrique, aux Etats-Unis et aux Antilles (Lehmann et Huntsman, 1966) elle a également été trouvée chez des sujets de nationalité marocaine (Verhoeven et Van Ros, 1968) et cubaine (Martinez *et al.*, 1973) sans qu'une origine négro-africaine du gène soit exclue chez ces porteurs. La variante G Philadelphia paraît liée à l' α -thalassémie (French et Lehmann, 1971; Martinez *et al.*, 1972). L'hémoglobine Stanleyville I trouvée dans le nord-est du Zaïre par Vande-

pitte et Dherte (1959) chez deux sujets de race Lugbara, d'origine nilotique, et dont les propriétés électrophorétiques et chromatographiques ont été précisées par Dherte *et al.*, (1959) serait d'après Bowman *et al.* (1966) identique à l'hémoglobine G Philadelphia.

III. Identification de l'hémoglobine Stanleyville II

1. L'hb Sta-II migre à l'électrophorèse sur papier en tampons alcalins comme les hb S et D (Dherte *et al.*, 1959). On la distingue néanmoins aisément de l'hémoglobine S par le fait qu'elle ne provoque pas *in vitro* la falciformation des hématies des porteurs : de plus sa solubilité complète à l'état désoxygéné dans les conditions du test d'Itano avec tampon au phosphate 2,24 M la distingue de l'hémoglobine S, qui est peu soluble dans ces conditions (Dherte *et al.*, 1959).

2. A l'électrophorèse en gel d'amidon avec tampons alcalins (figure 1) l'hb Sta-II migre comme l'hb S (Hall-Craggs *et al.*, 1964); par contre elle migre comme l'hb A à l'électrophorèse en gel de gélose à pH 6 (Van Ros *et al.*, 1968).

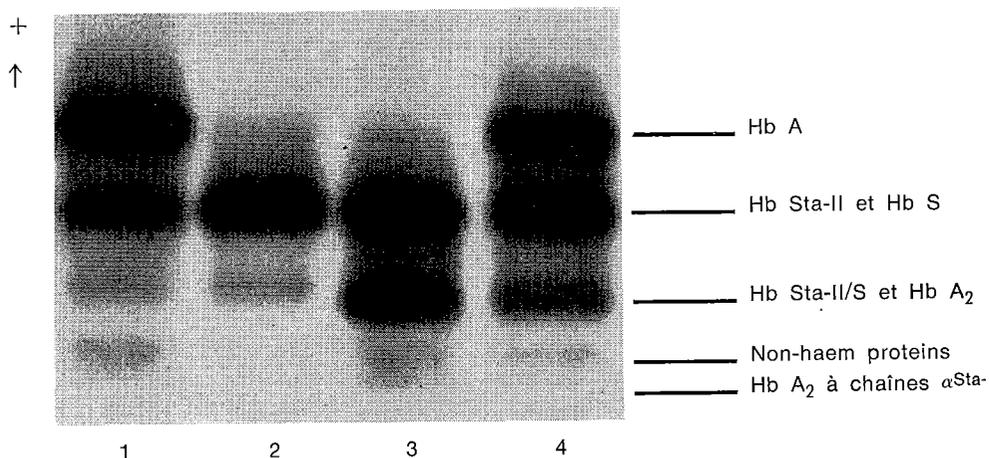


Figure 1

Electrophorèse en gel d'amidon de porteurs des hémoglobines Stanleyville II, S et Stanleyville II/S

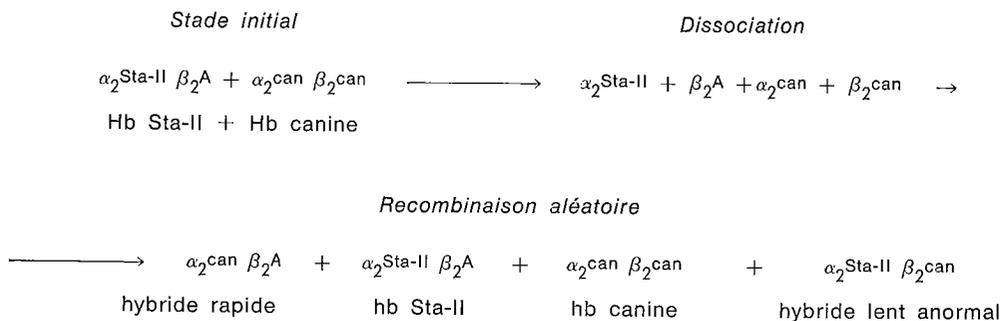
1. Hb A + Hb Sta-II : hétérozygote $\alpha^A/\alpha^{\text{Sta-II}}$;
2. Hb S : homozygote β^S/β^S ;
3. Hb S + Hb Sta-II/S : hétérozygote $\alpha^A/\alpha^{\text{Sta-II}}$; homozygote β^S/β^S ;
4. Hb A + Hb Sta-II + Hb S + Hb Sta-II/S : hétérozygote $\alpha^A/\alpha^{\text{Sta-II}}$; hétérozygote β^A/β^S .

3. A la chromatographie en résine Amberlite IRC-50 à pH 6 l'hb Sta-II se localise entre les hb S, D et Stanleyville I, qui sont plus rapides et l'hb L qui est plus lente (Dherte *et al.*, 1959).

4. Chez tous les porteurs de l'hb Sta-II on constate la présence d'une hémoglobine A₂ supplémentaire de mobilité électrophorétique plus faible que celle de l'hb A₂ normale à l'électrophorèse en gel d'amidon avec tampons alcalins (Hall-Craggs *et al.*, 1964); séparable également par chromatographie en résine DEAE-Sephadex A 50 avec gradients de tampons et par électrophorèse préparative, elle ne représente chez les hétérozygotes que de 0,5 à 1 p. cent de l'hémoglobine totale (Van Ros, 1965; Van Ros *et al.*, 1973). La présence d'une hb A₂ supplémentaire lente chez un hétérozygote pour une variante de l'hémoglobine indique que celle-ci est anormale dans ses chaînes α puisque ces chaînes sont communes à toutes les hémoglobines présentes au cours de la vie post-natale. Chez les porteurs de l'hb Sta-II cette hb A₂ anormale se décrit par la formule $\alpha_2^{78 \text{ asp} \rightarrow \text{lys}} \delta_2$

5. L'hybridation de la variante Sta-II avec l'hémoglobine C ($\alpha_2 \beta_2^C$) fournit de l'hémoglobine A et un hybride doublement anormal $\alpha_2^X \beta_2^C$ (Hall-Craggs *et al.*, 1964), ce qui prouve que son anomalie est dans les chaînes α ; dans le cas contraire en effet (anomalie β), seules les hémoglobines initiales Sta-II et C seraient reformées à la recombinaison aléatoire des chaînes dissociées.

6. L'hybridation de l'hb Sta-II avec l'hémoglobine canine fournit un hybride lent de mobilité plus réduite que celle de l'hybride lent formé lors de l'hybridation de l'hb A avec l'hb canine (Van Ros *et al.*, 1968). Ceci est également une caractéristique des variantes à chaînes α anormales :



7. L'hb Sta-II est identifiée par les anomalies caractéristiques de ses fingerprints obtenus après hydrolyse trypsique (figure 2) et par la mise en évidence de l'absence d'un résidu d'asparagine et de la présence d'un résidu de lysine supplémentaire à l'analyse des aminoacides du peptide anormal $\alpha^{\text{Sta-II}}\text{IX-a}$ ($\alpha^{\text{Sta-II}} 62$ à 78) comme décrit au paragraphe II.

8. L'origine géographique et ethnique du porteur peut être un élément contribuant à identifier une variante comme étant l'hb Sta-II : appartenance à une ethnie soudanaise ou nilotique ou à une famille originaire du Haut-Zaïre ou d'une région avoisinante.

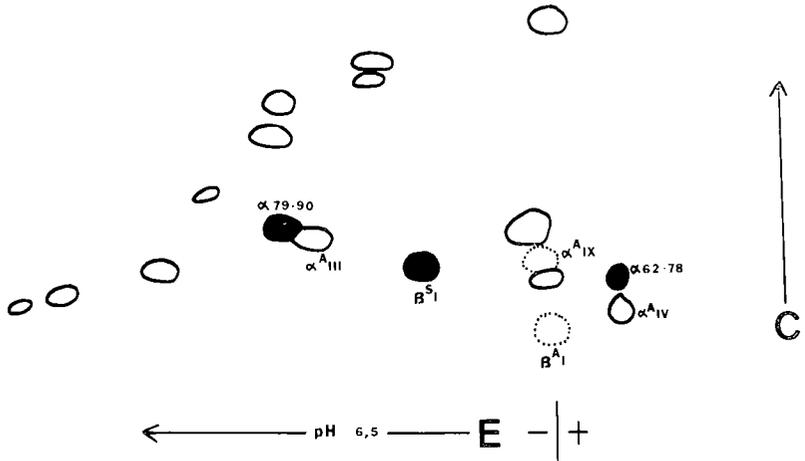


Figure 2

Schema du fingerprint de la variante Stanleyville II/S obtenu après hydrolyse trypsique (d'après Van Ros, G., Wiltshire, B., Renoirte-Monjoie, A. M., Vervoort, T. et Lehmann, H., 1973).

C : chromatographie; E : Electrophorèse.

En pointillé : peptides normaux manquants; en plein : nouveaux peptides.

Le peptide αIX (résidu 62 à 90) manque et est remplacé par deux nouveaux peptides, dont l'un ($\alpha^{Sta-IIIX-a}$) contient les résidus d'acides aminés α 62 à 78 et l'autre ($\alpha^{Sta-IIIX-b}$) les résidus α 79 à 90. En position 78 du peptide $\alpha^{Sta-IIIX-a}$ se trouve un résidu de lysine, alors que dans le peptide normal αIX c'est un résidu d'arginine qui se trouve en cette position (tableau 1); la lysine constitue un point d'attaque supplémentaire pour la trypsine, d'où la scission du peptide αIX en deux nouveaux peptides.

Le peptide $\beta A1$ est aussi manquant et est remplacé par un peptide situé en position du peptide anormal de l'hb S ($\beta S1$), dans lequel un résidu valyl remplace un résidu glytanyl (tableau 1).

Cette hémoglobine présente donc les chaînes anormales $\alpha 78$ lysine de l'hb Stanleyville II et les chaînes anormales $\beta 6$ valine de l'hb S.

IV. Données génétiques

1° La mutation α^{Sta-II}

L'asparagine est codée au niveau du RNA messager (m-RNA) par les triplets (codons) AAC (adénine-adénine-cytosine) ou AAU (adénine-adénine-uracil); d'autre part les codons pour la lysine sont constitués par les combinaisons AAA ou AAG (G = guanine). On en déduit que la mutation Stanleyville II résulte du remplacement d'une base pyrimidique (cytosine ou uracile) par une base purique (adénine ou guanine) au niveau de la troisième base du triplet du m-RNA codant pour la position $\alpha 78$. Il s'agit donc d'une transversion (remplacement d'une pyrimidine par une purine

ou v.v.), événement qui a deux fois plus de chances d'être constaté qu'une transition si les mutations viables se font complètement au hasard (en effet pour une modification d'une base unique dans un triplet douze possibilités existent, dont huit transversions et quatre transitions). L'étude des hémoglobines instables démontre que ceci n'est pas le cas, le nombre de transitions étant beaucoup plus important que la proportion 2:1 prévue (Carrell et Lehmann, 1969) : en effet 19 transversions et 16 transitions sont à l'origine des variantes instables actuellement connues (De Weinstein *et al.*, 1973; White, 1974).

2° Ségrégation indépendante des anomalies Sta-II et S :

Les chaînes polypeptidiques des hémoglobines humaines sont contrôlées par des loci chromosomiques différents et toutes ces hémoglobines, à l'exception des fractions embryonnaires normales Gower I (ϵ_4) et Portland I ($\gamma_2\zeta_2$), présentent des chaînes α combinées à un autre type de chaînes; de ce fait il est théoriquement possible que certains sujets puissent présenter des variantes doublement anormales, une des anomalies se trouvant dans les chaînes α et l'autre dans l'autre type de chaîne. De tels sujets ont effectivement été décrits. La nature et la fréquence de pareilles combinaisons dans une population donnée dépend nécessairement des fréquences respectives dans cette population des variantes dont l'anomalie est située dans des chaînes α d'une part, non- α d'autre part. Or seules quatre hémoglobines anormales présentent une incidence élevée dans différentes régions du globe et toutes quatre présentent leur anomalie dans les chaînes β : ce sont les hémoglobines S, E, C et D Punjab; l'incidence des autres variantes est soit réduite, soit très faible (Lehmann et Huntsman, 1966). De ce fait les sujets porteurs d'anomalies affectant deux types de chaînes sont nécessairement peu nombreux et ce sont les combinaisons d'une anomalie β fréquente avec une anomalie α qui ont le plus de chances de se produire : les anomalies α connues sont en effet beaucoup plus nombreuses que les anomalies γ ou δ (O.M.S., 1972). Effectivement ce sont uniquement des associations d'anomalies α avec une anomalie β fréquente, c'est-à-dire les hb S, C et D Punjab, qui ont été décrites jusqu'à présent et cela chez des sujets appartenant à une douzaine de familles seulement; parmi ces familles, deux comprenaient des sujets présentant à la fois les mutations hb Sta-II et hb S (Hall-Craggs *et al.*, 1964; Van Ros *et al.*, 1973). L'hb S a été trouvée ainsi associée avec l'hb Hopkins-2 (Smith et Torbert, 1958), l'hb G Philadelphia (Pugh *et al.*, 1964; Lie-Injo *et al.*, 1968), l'hb Stanleyville II (Hall-Craggs *et al.*, 1964; Van Ros *et al.*, 1973), l'hb Memphis (Kraus *et al.*, 1966), une hémoglobine D α (Wong et Huisman, 1972); l'hb C a été trouvée associée aux mutations G Philadelphia (Atwater *et al.*, 1960; Raper *et al.*, 1960; Baglioni et Ingram, 1967; Weatherall *et al.*, 1962), D α (McCurdy *et al.*, 1961) et G Baltimore (Rieder et Haughton, 1965); l'hb D Punjab a été trouvée en association avec l'hémoglobine G Philadelphia (Rothman et Ranney, 1971).

L'hétérozygotisme simultané pour une variante α et une variante β est démontrable chez les porteurs par un tracé électrophorétique particulier de l'hémoglobine résultant de la présence dans leurs hématies de quatre hémoglobines adultes principales au lieu d'une seule, dont la compo-

sition peut être représentée par les formules suivantes : $\alpha_2^A \beta_2^A$ (hémoglobine A), $\alpha_2^X \beta_2^A$ (variante α), $\alpha_2^A \beta_2^Y$ (variante β) et $\alpha_2^X \beta_2^Y$ (variante α - β). La variante α - β constitue une molécule hybride particulière, présentant quatre substitutions d'aminoacides de deux types différents. En général la présence simultanée dans les hématies de ces quatre variantes se traduit à l'électrophorèse et à la chromatographie des hémoglobines par la présence de trois fractions principales du fait de la superposition de deux d'entre elles. C'est ce qui fut constaté notamment chez les Africains combinant les hb Sta-II et S à l'état hétérozygote (Hall-Craggs *et al.*, 1964; Van Ros *et al.*, 1973).

L'étude de la ségrégation dans l'ensemble de ces familles des deux mutations α et non- α qui y coexistaient a contribué de manière importante à la compréhension du mode de transmission héréditaire des variantes de l'hémoglobine en particulier et des mutations affectant les protéines en général; elle a permis d'affirmer que les gènes déterminant la structure moléculaire des chaînes polypeptidiques α et β de la globine sont situés à des loci chromosomiques différents (non-allélisme); le caractère indépendant de la ségrégation des anomalies de ces deux types de chaînes au cours des générations dans certaines de ces familles a de plus été démontré (Raper *et al.*, 1960; Weatherall *et al.*, 1962; Rieder *et al.*, 1965; Lie-Injo *et al.*, 1968; Rothman et Ranney, 1971; Wong et Huisman, 1972); ceci prouve soit que les loci Hb α et Hb β ne sont pas situés sur la même paire chromosomique, soit, et moins vraisemblablement, qu'il n'y a pas de « linkage » étroit entre les deux loci : en cas de localisations éloignées l'une et l'autre des deux loci en effet, un taux suffisant d'enjambements (« crossing over ») suivis de recombinaisons peut se produire, expliquant dans une famille donnée le mode indépendant de ségrégation.

La famille zaïroise combinant les variantes Sta-II et S constitue un apport supplémentaire à cet égard : deux des phénotypes d'hémoglobine constatés en deuxième génération de cette famille ne peuvent s'expliquer par un linkage des loci Hb α et Hb β sur le même chromosome, sauf « crossing over » et recombinaison. Il y a évidemment intérêt à ce que les descriptions de pedigrees comprenant des hétérozygotes doubles pour des anomalies α et β soient suffisamment nombreuses pour permettre d'exclure le linkage avec certitude, ou au cas — devenu peu probable — d'un linkage lâche avec taux de recombinaisons élevé, de pouvoir déterminer de manière aussi précise que possible la localisation réciproque des loci Hb α et Hb β sur le chromosome porteur (*).

3. Sicklanémies à deux hémoglobines S

Outre les doubles hétérozygotes à quatre hémoglobines que nous venons de mentionner, les deux familles combinant les variantes Sta-II et S comprenaient chacune un propositus présentant un génotype atypique

(*) Les loci qui codent pour les chaînes non- α sont par contre en linkage étroit. Le linkage des loci Hb α et Hb β avait été démontré entre autres par l'analyse de la structure des hémoglobines Lepore; une autre variante de fusion, l'hb Kenya $\alpha_2(\gamma-\beta)_2$, a été récemment découverte, dont la structure, ainsi que les anomalies hématologiques des porteurs, démontrent que tous les loci non- α sont en linkage dans l'ordre suivant : G γ , A γ , δ . β (Clegg *et al.*, 1973; Kendall *et al.*, 1973).

encore différent; tous deux étaient de jeunes enfants souffrant d'un syndrome drépanocytaire; l'électrophorèse montra deux hémoglobines principales dont l'une était l'hémoglobine S et l'autre une variante plus lente migrant comme l'hb A₂ (figure 2). Dans le cas zaïrois (Van Ros *et al.*, 1973) l'électrophorèse des chaînes des globines du petit patient séparées les unes des autres par le 2-mercaptoéthanol-urée 6M, indiqua la présence de chaînes α normales, de chaînes α anormales et de chaînes β^S , à l'exclusion de chaînes normales; les chaînes α anormales de ce propositus furent identifiées aux chaînes α^{Sta-II} par analyse des peptides tryptiques de sa variante anormale lente (figure 2) tandis que celles du propositus ugandais (Hall-Craggs *et al.*, 1964) le furent par la démonstration de la présence de l'hb Sta-II à l'état hétérozygote chez des membres de sa famille, ainsi que par analyse des peptides tryptiques de leur variante. La présence chez ces jeunes patients de chaînes β^S avec absence de chaînes β normales implique qu'ils sont homozygotes pour le gène β^S et la présence simultanée de chaînes α^A et α^{Sta-II} , qu'ils sont hétérozygotes pour le gène α^{Sta-II} . De ce fait les chaînes qu'ils produisent donnent par combinaisons aléatoires les variantes $\alpha_2^A \beta_2^S$ ou hémoglobine S et $\alpha^{Sta-II} \beta_2^S$, qui est l'hybride Sta-II/S. Leur génotype fut d'ailleurs confirmé par l'examen des parents dont l'un présentait la tare sicklémique et l'autre le phénotype hb A + Sta-II + S + Sta-II/S caractéristique des hétérozygotes doubles. Ces patients présentaient donc en fait une sicklanémie due à deux hémoglobines S différentes, dont l'expression clinique sera discutée plus loin.

V. Expression clinique de la variante hb Sta-II et de ses combinaisons avec l'hb S

On n'a pas signalé jusqu'à présent de symptômes cliniques ou hématologiques résultant de l'état hétérozygote pour l'hb Sta-II: les anomalies constatées chez certains porteurs pouvaient être attribuées à d'autres causes, notamment des parasitoses. La localisation dans la molécule et la nature de la substitution d'acide aminé caractéristique de la variante ne laissent d'ailleurs pas prévoir de conséquences pathogènes dues à l'anomalie moléculaire elle-même (cfr paragraphe II, 2); la possibilité d'un linkage de la variante Sta-II avec l' α -thalassémie a été évoquée sur la base de constatations faites chez des porteurs des mutations α^{Sta-II} et β^S (Van Ros *et al.*, 1973) et chez des porteurs d'autres variantes à anomalies (Lehmann et Carrell, 1968, 1969; Hollán *et al.*, 1972; French et Lehmann, 1973; Martinez *et al.*, 1973); cette hypothèse est parfaitement compatible avec l'absence d'anomalies chez les porteurs hétérozygotes de l'hb Sta-II, l' α -thalassémie n'ayant fréquemment d'autre expression que la présence d'hémoglobine Bart's (γ_4) en faible quantité à la naissance, soit moins de 2 p. cent, lorsqu'elle se trouve à l'état hétérozygote à un des deux loci proposés pour les chaînes α (Lehmann, 1970).

Aucun homozygote pour la variante Sta-II n'a été décrit jusqu'à présent; la relative fréquence de la variante au nord du Zaïre ne rend néanmoins pas improbable que des homozygotes puissent être découverts. Dans ce cas le linkage avec l' α -thalassémie s'exprimerait vraisemblablement par des symptômes thalassémiques avec des taux d'hémoglobine

Bart's de l'ordre de 5 p. cent à la naissance (présence de deux gènes thalassémiques au même locus α). Compte tenu de ces conditions (deux loci α , homozygotisme pour l'hb Sta-II à un de ces loci et pour l' α -thalassémie à l'autre locus), ces sujets pourraient présenter une fraction d'hémoglobine A si la suppression de la synthèse des chaînes α normales par l' α -thalassémie homozygote n'est pas complète.

Des *hétérozygotes doubles pour les anomalies Sta-II et S* ont été découverts en Ouganda et au Zaïre. Bien qu'ils présentent quatre hémoglobines principales, dont l'hémoglobine A, et trois variantes (hb S, hb Sta-II et hb Sta-II/S), leur anomalie génétique ne semble pas provoquer de conséquences cliniques significatives; il a été rapporté (Van Ros *et al.*, 1973) qu'une de ces hétérozygotes avait accouché normalement à quatre reprises au cours d'une période de 8 ans; un de ces enfants, hétérozygote double comme sa mère, était cliniquement asymptomatique; les dosages indiquent d'ailleurs que les chaînes β^S ne représentent pas plus de 35 p. cent des chaînes β chez ces sujets, proportion qui est analogue à celle des porteurs communs de la tare sickléémique, qui est en général asymptomatique. Il serait néanmoins souhaitable que certains de ces hétérozygotes doubles fassent l'objet d'examen cliniques et hématologiques approfondis eu égard à la multiplicité des variantes dont ils sont porteurs et à la possibilité de la liaison de l'anomalie α^{Sta-II} à l' α -thalassémie.

Deux sujets *hétérozygotes pour la variante Sta-II et homozygotes pour la variante S* ont été décrits en détail; ils présentaient une sicklanémie caractérisée par la présence de deux hémoglobines S, l'une à chaînes α normales, l'autre à chaînes α^{Sta-II} . Le cas ougandais, observé entre 1 et 3 ans d'âge, présentait un syndrome drépanocytaire avec anémie grave, splénomégalie, ictère intermittent et « hand-foot syndrome » à répétition (Hall-Craggs *et al.*, 1964); le cas zaïrois par contre, âgé de 7 ans à l'observation, avait présenté depuis son plus jeune âge une sicklanémie d'un cours beaucoup plus bénin (Van Ros *et al.*, 1973). L'étude de ce cas et des membres de sa famille a fait supposer que la mutation hb Sta-II comme d'autres variantes à chaînes α anormales, est en linkage avec l' α -thalassémie. Cette hypothèse est basée sur des constatations de deux ordres :

1° Les taux des chaînes anormales α^{Sta-II} dépassent nettement les 25 p. cent du total des chaînes α chez le propositus, chez les membres de sa famille porteurs de ces chaînes et chez les sujets porteurs membres de la famille ougandaise décrite par Hall-Craggs (Hollán *et al.*, 1972). Que ceci est en faveur d'une liaison entre la variante Sta-II et l' α -thalassémie s'explique de la manière suivante : les porteurs hétérozygotes de la plupart des variantes de l'hémoglobine à chaînes α anormales présentent ces chaînes à des taux égaux ou inférieurs au quart du total des chaînes α , ce qui est en concordance avec la théorie de l'existence chez l'homme de deux loci structurels Hb α et donc de quatre gènes α (Lehmann et Carrell, 1968, 1969; Lehmann, 1970; Brimhall *et al.*, 1970) : ces sujets ne disposent en effet que d'un seul gène α muté sur quatre. Quelques variantes α font néanmoins exception à cette règle; elles s'accompagnent de symptômes hématologiques de thalassémie chez certains porteurs : c'est notamment le cas des hémoglobines G Philadelphia (Verhoeven et Van Ros, 1968; French et Lehmann, 1971; Martinez *et al.*, 1973)

et Q Thailand (Lorkin *et al.*, 1970). Pour ces variantes à taux de chaînes α anormales élevés, ces taux s'expliquent par un linkage de la variante avec l' α -thalassémie : celle-ci ralentit la synthèse des chaînes α normales et augmente de ce fait proportionnellement les taux des chaînes α mutées, tout en s'exprimant chez certains des porteurs par des anomalies hématologiques caractéristiques. Les taux des chaînes α anormales des porteurs de l'hb Sta-II la font ranger parmi ces variantes vraisemblablement liées à l' α -thalassémie.

2° Un linkage de l'anomalie $\alpha^{\text{Sta-II}}$ avec l' α -thalassémie est en concordance avec diverses particularités du syndrome présenté par le propositus de la famille zaïroise : ce jeune patient montrait en effet une hypochromie persistante avec sidéremie normale et une sicklanémie d'évolution bénigne dont le cours contrastait avec celui d'une de ses sœurs, sicklanémique dépourvue de chaînes $\alpha^{\text{Sta-II}}$, qui, bien que vivant dans des conditions d'environnement semblables, souffrait d'une drépanocytose grave; or diverses observations paraissent bien indiquer que l' α -thalassémie réduit la gravité de la drépanocytose à laquelle elle est associée en provoquant de l'hypochromie (Weatherall *et al.*, 1969; van Enk *et al.*, 1972); l' α -thalassémie tend ainsi à réduire la concentration en hémoglobine S des érythrocytes des sicklanémiques qui en sont porteurs et donc la tendance de ces érythrocytes à falciformer *in vivo*. Les particularités hématologiques et chimiques du propositus cadrent avec cette hypothèse, puisqu'il présentait une drépanocytose bénigne avec hypochromie persistante, cette dernière ne s'accompagnant pas d'hyposidéremie. L'hypothèse d'un linkage de la mutation $\alpha^{\text{Sta-II}}$ avec l' α -thalassémie rend donc compte des particularités observées chez le propositus; il reste à la vérifier par l'observation d'autres sujets présentant la combinaison génotypique $\alpha^A/\alpha^{\text{Sta-II}}$; β^S/β^S .

Samenvatting — Stanleyville II, een hemoglobinevariant met abnormale α -ketens die frekwent is in het noorden van Zaïre. Betreffende gevallen van sikkelcelanemie met hemoglobinen S en Stanleyville II/S.

De gegevens bekomen sedert 1959 betreffende hemoglobine Stanleyville II worden beschreven, in het bijzonder de geografische en ethnische verspreiding, de eigenschappen welke de identificatie toelaten, de bepaling van de moleculaire abnormaliteit en de genetische en hematologische kenmerken van de dragers. Andere varianten van de hemoglobine die met hemoglobine Stanleyville II een gelijkenis vertonen wat de aard of de localisatie van de moleculaire abnormaliteit betreft (hemoglobinen G Philadelphia, Stanleyville I en J Singapore) worden vermeld.

De aminozuur substitutie van hemoglobine Stanleyville II is gelegen op de ligging $\alpha 78$ (EF7), waar een asparagyl vervangen is door een lysyl. Stanleyville II is de hemoglobinevariant die, tot op heden, het meest werd opgespoord bij Zaïresen, met uitzondering van hemoglobine S; ze werd samen met deze laatste bij sommige inboorlingen van Zaïre en Uganda gevonden. De heterozygoten voor deze twee mutaties vertonen hemoglobine A en drie varianten van deze laatste, waarvan één hybride, hemoglobine Stanleyville II/S ($\alpha_2^{78\text{lys}} \beta_2^{6\text{val}}$). Twee patiënten combineerden de heterozygote toestand voor de variant Stanleyville II met de homozygote toestand voor de variant S : het sikkelcelsyndroom welke ze vertoonden wordt beschreven.

De segregatiewijze van de Stanleyville II en S mutaties in een Zaïrese familie is een aanwijzing te meer dat de Hb α en Hb β loci gelegen zijn op verschillende chromosomen paren. Bepaalde bijzonderheden bij de dragers van deze mutaties

wijzen erop dat de Stanleyville II abnormaliteit gebonden zou kunnen zijn aan de α -thalassemie, zoals reeds verondersteld voor andere varianten met abnormale α -ketens.

Summary — Stanleyville II, a haemoglobin variant with abnormal α -chains frequent in the north of Zaïre. About cases of sickle cell anaemia with haemoglobins S and Stanleyville II/S.

The data obtained since 1959 about haemoglobin Stanleyville II are reviewed and particularly its known geographic and ethnic distribution, the properties enabling its identification, its molecular abnormality and the genetic and haematologic characteristics of the carriers; some other variants similar to it with respect to the nature or the localization of the molecular abnormality are also dealt with: haemoglobins J Singapore, G Philadelphia and Stanleyville I.

The characteristic amino acid substitution of haemoglobin Stanleyville II is localized in the position $\alpha 78$ (EF7), where, a lysine residue replaces an asparagine residue. Stanleyville II is the haemoglobin variant most frequently found up to now in natives of Zaïre, with the exception of the by far predominating haemoglobin S; it has been found together with the latter in some subjects in Zaïre and in Uganda; the heterozygotes for both of these mutations have four main haemoglobins, amongst which the hybrid haemoglobin Stanleyville II/S ($\alpha_2^{78\text{Lys}} \beta_2^{6\text{Val}}$); two subjects combined the heterozygous state for the variant Stanleyville II with the homozygous state for the variant S: their sickle cell syndrome is described.

The segregation pattern of the mutations Stanleyville II and S in a Zaïrian family provides a further indication about the localization of the Hb α and Hb β loci on different pairs of chromosomes. Some characteristics of the carriers of these mutations indicate that the Stanleyville II abnormality could be linked with α -thalassaemia, as previously suggested for some other α -chain variants.

G. Van Ros : Laboratoire d'Hématologie Tropicale de l'Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold (Directeur : Prof. P. G. Janssens), Nationalestraat 155, B-2000 Antwerpen, Belgique.

Reçu pour publication le 19 avril 1974.

REFERENCES

- Atwater, J., Schwartz, I. R. et Tocantins, L. M., (1960) : A variety of human hemoglobin with four distinct electrophoretic components. *Blood*, **15**, 901.
- Baglioni, C. et Ingram, V. M., (1961) : Four adult haemoglobin types in one person. *Nature*, **189**, 465.
- Blackwell, R. G., Boon, W. H., Liu, C. S. et Weng, M. I. (1972) : Hemoglobin J. Singapore : $\alpha 78$ asparagine \rightarrow aspartic acid; $\alpha 79$ alanine \rightarrow glycine. *Bioch. biophys. Acta*, **278**, 482.
- Bookchin, R. M., Nagel, R. L. et Ranney, H. M., (1967) : Structure and properties of haemoglobin C Harlem, a new sickling haemoglobin variant. *Ann. int. Med.*, **68**, 8.
- Bowman, B. H., Barnett, D. R. Hodgkinson R. T. et Schneider, R. G., (1966) : Chemical characterization of haemoglobin G St-I. *Nature*, **211**, 1305.
- Brimhall, B., Hollán, S. R., Jones R. T., Koler, R. D., Stocklen, Z. et Szelenyi, J. G. (1970) : Multiple alpha-chain loci for human hemoglobin. *Clin. Res.*, **18**, 184.
- Carrell, R. W. et Lehmann, H. (1969) : The unstable haemoglobin haemolytic anaemias. *Sem. Hemat.*, **6**, 116.
- Clegg, J. B., Weatherall, D. J. et Gilles, H. M. (1973) : Hereditary persistence of foetal haemoglobin associated with a γ - β fusion variant, haemoglobin Kenya. *Nature New Biol.*, **246**, 184.
- De Weinstein, B. I., White, J. M., Wiltshire, B. G., Lehmann, H. (1973) : A new unstable haemoglobin : Hb Buenos Aires, $\beta 85$ (F1) Phe \rightarrow Ser. *Acta haemat.*, **50**, 357.
- Dherte, P., Vandepitte, J., Ager, J. A. M. et Lehmann, H. (1959) : Stanleyville I et II — Two new variants of adult haemoglobin. *Br. med. J.*, **2**, 282.
- French, E. A. et Lehmann, H. (1971) : Is haemoglobin G α Philadelphia linked to α -thalassaemia ? *Acta haemat.*, **46**, 149.

- Hall-Craggs, M., Marsden, P. D., Raper, A. B., Lehmann, H. et Beale, D. (1964) : Homozygous sickle-cell anaemia arising from two different hemoglobins S. Interaction of haemoglobins S and Stanleyville II. *Brit. med. J.*, **2**, 87.
- Hollán, S. R., Jones, R. T. et Koler, R. D. (1972) : Duplication of haemoglobin genes. *Biochimie*, **54**, 639.
- Kattamis, C. et Lehmann, H. (1970) : Duplication of alpha-thalassaemia gene in three greek families with haemoglobin H disease. *Lancet*, **2**, 635.
- Kattamis, C. et Lehmann, H. (1970) : The genetical interpretation of haemoglobin H disease. *Human Hered.*, **20**, 156.
- Kendall, A. G., Ojwang, P. J., Schroeder, W. A. et Huisman, T. H. J. (1973) : Hemoglobin Kenya, the product of a γ - β fusion gene : studies of the family. *Am. J. hum. Genet.*, **25**, 548.
- Konotey-Ahulu, F. I. D., Gallo, E., Lehmann, H. et Ringelmann, B. (1968) : Haemoglobin Korle-Bu (β 73 aspartic acid-asparagine) showing one of the two amino acid substitutions of haemoglobin C Harlem. *J. med. Genet.*, **5**, 107.
- Kraus, L. M., Miyaji, T., Iuchi, I. et Kraus, A. P. (1966) : Characterization of α^{23} glu NH2 in hemoglobin Memphis. Hemoglobin Memphis/S, a new variant of molecular disease. *Biochemistry*, **5**, 3701.
- Lang, A., Lehmann, H., McCurdy, P. R. et Pierce, L. (1972) : Identification of haemoglobin C Georgetown. *Biochim. biophys. Acta*, **278**, 57.
- Lehmann, H., (1970) : Different types of α -thalassaemia and significance of haemoglobin Bart's in neonates. *Lancet*, **2**, 78.
- Lehmann, H. et Carrell, R. W. (1968) : Difference between α -chain and β -chain mutants of human haemoglobin and between α - and β -thalassaemia. Possible duplication of the α -chain gene. *Brit. med. J.*, **4**, 748.
- Lehmann, H. et Carrell, R. W. (1969) : Variations in the structure of human haemoglobin with particular reference to the unstable haemoglobins. *Brit. med. Bull.*, **25**, 14.
- Lehmann, H. et Huntsman, R. G. (1966) : Man's haemoglobins, including the haemoglobinopathies and their investigation. North-Holland Publishing Co, Amsterdam, p. 129.
- Lie-Injo, L. E., Wang, A. C. et Burnett, R. C. (1968) : Another family showing the interaction of the genes for Hb G and Hb S. *Acta haemat.*, **40**, 286.
- Lorkin, P. A., Charlesworth, D., Lehmann, H., Rahbar, S., Tuchinda, S. et Lie-Injo Luan Eng (1970) : Two haemoglobins Q α 74 (EF 3) and α 75 (EF 4) aspartic acid \rightarrow histidine. *Br. J. haemat.*, **19**, 117.
- Martinez, G., Vidal, H. et Colombo, B. (1973) : A further observation on the possible association between haemoglobin G α Philadelphia and α -thalassaemia. *Hum. Hered.*, **23**, 157.
- McCurdy, P. R., Pearson, H. and Gerald, P. S. (1961) : A new hemoglobinopathy of unusual genetic significance. *J. Lab. clin. Med.*, **58**, 86.
- Organisation Mondiale de la Santé (1972) : Treatment of haemoglobinopathies and allied disorders. *Wld. Hlth. Org. techn. Rep. Ser. nr 509*, p. 45.
- Perutz, M. F. (1965) : Structure and function of haemoglobin. I. A tentative atomic model of horse oxyhaemoglobin. *J. molec. Biol.*, **13**, 646.
- Perutz, M. F. et Lehmann, H. (1968) : Molecular pathology of human haemoglobin. *Nature*, **219**, 902.
- Pugh, R. P., Monical, K. V. et Minnich, V. (1964) : Sickle cell anaemia with two adult haemoglobins — Hb S and Hb G Philadelphia/S. *Blood*, **23**, 206.
- Raper, A. B., Gammack, D. B., Huehns, E. R. et Shooter, E. M. (1960) : Four hemoglobins in one individual. A study of the genetic interaction of Hb-G and Hb-C. *Brit. med. J.*, **2**, 1257.
- Rieder, R. F. et Naughton, M. A. (1965) : Haemoglobin G (Baltimore). A new abnormal haemoglobin and an additional individual with four haemoglobins. *Bull. Johns Hopk. Hosp.*, **116**, 17.
- Rothman, M. C. et Ranney, H. M. (1971) : Double heterozygosity for hemoglobin G($\alpha_2^{68lys} \beta_2^A$) and hemoglobin D ($\alpha_2^A \beta_2^{121gln}$) *Blood*, **37**, 177.
- Shotton, D. M. et Hartley, B. S. (1970) : Amino acid sequence of porcine pancreatic elastase and its homologies with other serine proteinases. *Nature*, **225**, 802.
- Smith, E. W. et Torbert, J. V. (1958) : Study of two abnormal hemoglobins with evidence for a new genetic locus for hemoglobin formation. *Bull. Johns Hopk. Hosp.*, **102**, 38.
- Vandepitte, J. et Dherte, P. (1959) : Enquête sur les hémoglobines anormales à Stanleyville. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **39**, 711.
- van Enk, A., Lang, A., White, J. M. et Lehmann, H. (1972) : Benign obstetric history in women with sickle-cell anaemia associated with α -thalassaemia. *Brit. med. J.*, **4**, 524.
- Van Ros, G. (1966) : Méthode de séparation et de purification des fractions de l'hémoglobine par électrophorèse en bloc d'amidon; application au dosage de l'hémoglobine A $_2$. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **46**, 355.

- Van Ros G., Beale, D. et Lehmann, H. (1968) : Haemoglobin Stanleyville II (α^{78} asparagine \rightarrow lysine). *Brit. med. J.*, **4**, 92.
- Van Ros, G., Wiltshire, B., Renoirte-Monjoie, A. M., Vervoort, T. et Lehmann, H. (1973) : Interaction entre les hémoglobines Stanleyville II et S dans une famille du Zaïre. Etude de l'hybride Stanleyville II/S (α^{78} lys β^{26} val). *Biochimie*, **55**, 1107.
- Verhoeven, L. et Van Ros, G. (1968) : Variantes G Philadelphia et G₂ de l'hémoglobine chez un immigrant marocain en Belgique. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **48**, 225.
- Weatherall, D. J., Clegg, J. B., Blankson, J. et McNiel, J. R. (1969) : A new sickling disorder resulting from interaction of the genes for haemoglobin S and α -thalassaemia. *Br. J. Haemat.*, **17**, 517.
- Weatherall, D. J., Sigler, A. T. et Baglioni, C. (1962) : Four hemoglobins in each of three brothers. Genetic and biochemical significance. *Bull. Johns. Hopk. Hosp.*, **111**, 143.
- White, J. M. (1974) : The unstable haemoglobin disorders. *Clin. Haemat.*, **3**, (sous presse), cité par De Weinstein *et al.*, 1973.
- Wong, S. C. et Huisman, T. H. J. (1972) : Further evidence for non linkage of the Hb α and Hb β structural loci in man. *Clin. chim. Acta*, **38**, 473.
-