

Etude de cinq microsatellites dans une population porteuse de l'allèle β^s

A. MEJRI,
H. SIALA,
F. OUALI,
R. BELHADJ,
A. BIBI,
T. MESSAOUD

Résumé : Les microsatellites sont les marqueurs moléculaires les plus employés dans les études de la diversité génétique grâce à leur grand leur polymorphisme. Par ailleurs, la drépanocytose, constitue, de par sa fréquence et sa sévérité clinique un problème de santé publique en Tunisie. Au cours de ce travail, nous nous sommes proposés d'étudier, par la technique d'électrophorèse capillaire sur analyseur automatique (ABI Prism310), 5 marqueurs microsatellites : D14S261, D14S72, D14S990, D14S68, D18S1147 chez des porteurs homozygotes et hétérozygotes de l'allèle β^s (prélèvements collectés à l'occasion d'un diagnostic prénatal).

La comparaison des fréquences alléliques de ces 5 marqueurs, entre 18 porteurs de l'allèle β^s et 19 sujets témoins a révélé d'une part l'absence de l'allèle (113pb) du marqueur D14S68 chez les porteurs de l'allèle β^s . Deux hypothèses sont à même d'expliquer cette absence : la première est que cet allèle est associé à une forme létale quand il est concomitant à l'allèle β^s et la seconde est que l'origine des drépanocytaires tunisiens est différente de celle de la population témoin. La comparaison a aussi révélé l'association de l'allèle β^s à un allèle du marqueur D14S261 (192pb) ce qui a permis d'évoquer deux éventualités : soit qu'il existe une association ancestrale entre cet allèle et l'allèle β^s et/ou qu'il est associé à un caractère qui avantagerait les porteurs de l'allèle β^s . Ce travail devra être complété par l'étude des gènes entourant les marqueurs identifiés.

Mots-clés : Microsatellites - drépanocytose - Fréquence allélique - β^s

Study of five microsatellites in B^s carriers

Abstract : Microsatellites are the most used molecular markers in genetic diversity studies because of their high polymorphism. Furthermore, Sickle cell anemia, constitutes by their frequency and clinical severity, a public health problem in large parts of the world and particularly in Tunisia. In this work, we have implemented the study, by ABI Prism 310 genetic analyser, of five STRs : D14S261, D14S72, D14S990, D14S68 and D18S1147. STR analysis has been used to compare allele frequencies of the five's STR between the 18 β^s carriers and 19 control subjects. The comparison showed, firstly, the lack of an allele of the marker D14S68 in the β^s trait carriers, which could be explained by the association of this allele with a lethal form or by a different origin of Tunisian sickle cell carriers. Secondly it has been revealed the association between the β^s allele and an allele of marker D14S261. This suggests two possibilities : an association between this allele and ancestral allele β^s and/ or an association of this allele with a character that would benefit β^s allele carriers. This work has to be completed by the study of the genes surrounding the identified markers.

Keywords : Microsatellites - Sickle cell anemia - allele frequency - β^s

Laboratoire de biochimie Clinique
Hôpital d'Enfants de Tunis

Introduction

La drépanocytose ou anémie falciforme est une maladie monogénique du globule rouge due à une mutation ponctuelle (GAG → GTG) dont la conséquence est une substitution de l'Acide glutamique par la Valine en position 6 de la chaîne β -globine (1).

Cette anomalie qualitative est une des premières maladies monogéniques dont le mécanisme moléculaire a été caractérisé. Le globule rouge drépanocytaire, contient au lieu de l'hémoglobine A (HbA) normale, une hémoglobine anormale appelée HbS de structure différente, de mobilité électrophorétique plus lente que l'HbA et d'affinité à l'O₂ plus élevée. En cas d'hypoxie, les chaînes β^s polymérisent entre elles en formant une structure rigide donnant la forme en faucille au globule rouge (2).

Les syndromes drépanocytaires majeurs (SDM) constituent un groupe d'anémies hémolytiques chroniques congénitales dues à la présence de l'hémoglobine anormale (HbS) soit à l'état homozygote (SS) ou en association avec une autre hémoglobinopathie (hémoglobinose C, ou une β -thalassémie).

La drépanocytose est une hémoglobinopathie fréquente dans les populations originaires d'Afrique tropicale (Afrique, Antilles, Amérique) et à un moindre degré dans celles du bassin méditerranéen, du Moyen-Orient et de l'Inde (3). Bien que la mutation soit identique chez les populations touchées, l'affection n'y présente pas la même gravité clinique. En fait, l'expression de l'anémie falciforme diffère sensiblement selon les ethnies (4).

En Tunisie, la répartition géographique de la drépanocytose n'est pas homogène à travers le pays. D'après des enquêtes systématiques réalisées, la fréquence de l'allèle β^s dans la population est de 1,89% (5), avec une large prévalence dans le Nord-Ouest du pays, elle atteint 16% des porteurs de drépanocytose, à Néfza (5).

Les microsatellites, répétitions courtes en tandem (Short Tandem Repeat : STR), sont de puissants marqueurs pour les études de la diversité humaine. On pense que leurs variations sont sélectivement neutres à l'exception de celles étroitement liées ou situées dans un locus soumis à la sélection (6).

La variation des allèles est dite adaptative à des environnements différents (7). Ainsi un allèle court peut être adapté à un environnement, alors que l'allèle long est adapté à un milieu différent. La variation de la population permettrait d'assurer la survie du groupe dans différentes situations.

Les STR ont été à la base des cartes génétiques les plus importantes de l'homme et sont couramment utilisés dans la cartographie des gènes responsable de maladies (8-11). Plus récemment, ils ont été utilisés dans la construction d'arbres évolutifs (12) et dans l'identification médico-légale (13,14). Le but de ce travail est de comparer la fréquence de la distribution allélique d'une population de porteur de l'allèle β^s à une population témoin à la recherche d'une association entre l'allèle β^s et l'allèle d'un des marqueurs microsatellites.

Matériel et méthodes

Sujets étudiés

Le présent travail a été mené sur 37 sujets, repartis en deux groupes :

- dix-neuf sujets sains (non porteurs d'hémoglobinopathies) qui nous ont permis de mettre au point la technique d'étude et ont servi de groupe témoin
- dix-huit porteurs de l'allèle β^s , collectés dans une étude de la contamination par les cellules maternelle (CCM) lors de diagnostic prénatal (DPN), repartis en 3 sujets drépanocytaires homozygotes et 15 sujets drépanocytaires hétérozygotes.

Le consentement a été obtenu de la part des différents sujets adultes et de la part de leurs familles pour les enfants.

Cinq à 10 ml de sang périphérique total ont été prélevés sur anticoagulant pour le groupe témoin en vue d'une extraction d'ADN (EDTA\K3 0,11 M). Pour les DPN les liquides amniotiques ont été prélevés, dans les services de gynécologie, entre 14 et 16 semaines d'aménorrhée.

Méthodes

L'ADN des témoins a été extrait par la méthode standard au phénol chloroforme (15). Les liquides amniotiques ont subi au préalable une lyse cellulaire.

Les microsatellites sont utilisés dans notre laboratoire pour détecter la contamination par les cellules maternelle (CCM) lors de diagnostic prénatal (DPN) des hémoglobinopathies. Au cours des diagnostics prénataux, nous avons utilisé un grand nombre de microsatellites, et nous avons choisi pour ce travail les cinq les plus informatifs : (D14S261, D14S72, D14S990, D14S68, et D18S1147). Les STR ont été amplifiés par des amorces fluorescentes à l'aide d'un Master Mix® (Promega, Madison, WI) puis analysés par électrophorèse capillaire sur ABI prism 310 (Applied Biosystems, Warrington, Lancashire, UK). Les séquences des amorces utilisées pour l'amplification des STR sont :

D14S261 : Forward (hex) 5'-GGCAGTATGACCCAGTTACAGAT-3';
Reverse 5'-ATTTTGAAGCCCCAGGAA-3'.

D14S72 : Forward (fam) 5'-CAGGAATAATGATCAAGCAGAAAAA-3';
Reverse 5'-TTTGCAATCTATGAGTCTGCAATGA-3'.

D14S990 : Forward (fam) 5'-TCTGTCCCCAGGGTCTCTCCA-3';
Reverse 5'-TGGGTGTTGGGACTGTTGGC-3'.

D14S68 : Forward (tet) 5'-TGCCTCAGCCCAACCTCAG-3';
Reverse 5'-TGGTTCAGGGATAGTTGGTGGGT-3'.

D18S1147 : Forward (hex) 5'-GTTGGCCTTAGCACAATG-3';
Reverse 5'-AGGACTGGGACATGGCTCT-3'.

Pour l'analyse statistique, chaque marqueur a été repris dans un tableau. Les colonnes correspondent aux différents allèles identifiés du marqueur (noté selon la taille de fragment amplifié) chez les sujets, et les lignes correspondent aux différents sujets. Les sujets ont été divisés en deux groupes témoins (noté 1) et porteurs de l'allèle β^s (noté 2). Le groupe des porteurs de l'allèle β^s est divisé en deux types : homozygotes (noté 1) et hétérozygotes (noté 2) ; Les sujets de chaque sous type sont numérotés de 1 à 19 pour les témoins, de 1 à 3 pour les drépanocytaires homozygotes et de 1 à 15 pour les

drépanocytaires hétérozygotes. Pour chaque allèle, la présence est notée 1 et l'absence est notée 2.

Le tableau 1 concernant le D14S261, est un exemple type de ces cinq tableaux élaborés pour chaque STR.

L'analyse par SPSS (version 11.5) a porté sur la comparaison de la distribution de chacun de ces allèles entre les témoins et les porteurs de l'allèle β^s . Le seuil de significativité est 0,05.

Résultats

Les allèles sont désignés par la taille du fragment amplifié

- Chez les témoins

Le marqueur **D14S261 (PV)** se présente sous 8 formes alléliques chez 19 témoins avec 7 homozygotes et 12 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 192pb, (Figure 1).

Le marqueur **D14S72 (PVI)** se présente sous 9 formes alléliques chez 19 témoins avec 8 homozygotes et 11 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 228pb, (Figure 2),

Le marqueur **D14S990 (PVII)** se présente sous 15 formes alléliques chez 19 témoins, avec 2 homozygotes et 17 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 80pb, (Figure 3).

Le marqueur **D14S68 (PVIII)** se présente sous 8 formes alléliques chez 19 témoins, avec 7 homozygotes et 12 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 113pb, (Figure 4).

Le marqueur **D18S1147 (PXIII)**, se présente sous 15 formes alléliques chez 19 témoins, avec 4 homozygotes et 15 hétérozygotes (Tableau 2). L'allèle le plus fréquent est celui de 112pb, suivi par celui de 102pb et 104pb, (Figure 5).

Tableau 1a : Les données brutes analysées par SPSS. Répartition des groupes

Groupes	Types	Sous types	allèles
Groupe 1 = Témoins	Normaux = 1	Numéros d'individu	Présence de l'allèle = 1
Groupe 2 = porteurs de l'allèle β^s	Homozygotes SS = 1 Hétérozyte AS = 2		Absence de l'allèle = 2

Tableau 1b : Les données brutes analysées par SPSS. Exemple du marqueur D14S261

Groupes	Types	Sous types	168	170	186	188	190	192	194	196	198
1	1	1	1	2	2	2	1	2	2	2	2
1	1	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2
1	1	3	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	4	2	2	2	2	2	2	1	1	2
1	1	5	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	6	2	2	2	2	2	1	1	2	2
1	1	7	2	2	2	2	1	1	2	2	2
1	1	8	2	2	2	2	2	1	2	2	2
1	1	9	2	2	2	2	2	1	2	2	2
1	1	10	2	1	2	2	2	2	2	2	1
1	1	11	2	2	2	1	2	2	1	2	2
1	1	12	2	2	2	2	2	2	1	2	2
1	1	13	2	2	2	2	2	2	1	2	2
1	1	14	2	2	2	2	2	1	2	2	2
1	1	15	2	2	2	2	2	2	1	2	2
1	1	16	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	17	2	2	2	2	2	1	1	2	2
1	1	18	2	2	2	2	2	1	2	2	1
1	1	19	2	2	2	2	2	1	2	2	2
2	1	1	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	1	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	1	3	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	3	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	4	2	2	2	2	2	1	2	2	1
2	2	5	2	2	2	2	1	2	2	2	1
2	2	6	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	7	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	8	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	9	2	2	2	1	2	1	2	2	2
2	2	10	2	2	2	2	2	1	2	1	2
2	2	11	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	12	1	2	2	2	2	2	1	2	2
2	2	13	1	2	2	2	2	1	2	2	2
2	2	14	2	2	2	2	2	2	2	2	2
2	2	15	2	2	2	2	1	2	2	1	2

Tableau 2 : Allèles signalés par la taille de fragments amplifiés des 5 marqueurs microsatellites étudiés chez le groupe de témoins

	Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S261 en pb	Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S72 en pb	Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S990 en pb	Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S68 en pb	Taille des allèles signalés pour le marqueur D18S1147 en pb
Témoïn 1	168 190	218 236	72 74	115 115	102 104
Témoïn 2	168 190	240 240	80 98	113 113	102 108
Témoïn 3	192 198	238 240	74 80	117 117	110 116
Témoïn 4	194 196	206 238	80 82	107 121	104 120
Témoïn 5	192 198	228 228	82 84	111 113	96 122
Témoïn 6	192 194	226 228	96 96	107 111	90 100
Témoïn 7	190 192	226 226	84 86	117 119	122 122
Témoïn 8	192 192	226 238	66 70	115 115	100 116
Témoïn 9	192 192	206 228	78 80	117 117	114 118
Témoïn 10	170 198	226 228	88 90	107 119	112 118
Témoïn 11	188 194	238 240	86 88	101 113	118 124
Témoïn 12	194 194	230 230	80 82	115 115	102 104
Témoïn 13	194 194	228 228	76 80	113 115	106 120
Témoïn 14	192 192	226 226	84 86	113 113	112 112
Témoïn 15	194 194	228 230	70 82	113 115	102 112
Témoïn 16	192 198	236 244	62 62	117 119	104 104
Témoïn 17	192 194	228 240	66 80	113 115	102 116
Témoïn 18	192 198	228 228	80 86	107 115	108 118
Témoïn 19	192 192	228 228	80 86	111 117	112 112

• Chez les porteurs de l'allèle β^s

L'analyse du marqueur **D14S261 (PV)** chez 17 porteurs de l'allèle β^s , a mis en évidence 2 homozygotes et 15 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 7 formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 192pb suivi par celui de 168pb. (Figure 1).

L'analyse du marqueur **D14S72 (PVI)**, chez 17 porteurs de l'allèle β^s , a mis en évidence 3 homozygotes et 15 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 10 formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 228pb, (Figure 2).

L'analyse du marqueur **D14S990 (PVII)**, chez 13 porteurs

Tableau 3 : Allèles signalés par la taille de fragments amplifiés des 5 marqueurs microsatellites étudiés chez les porteurs de l'allèle β^s

	Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S261 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S72 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S990 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D14S68 en pb		Taille des allèles signalés pour le marqueur D18S1147 en pb	
Sujet 1	192	192	218	226	80	80	119	121	98	106
Sujet 2	168	192	228	228	76	92	107	119	104	118
Sujet 3	168	192	218	228	–	–	107	119	106	118
Sujet 4	168	192	218	228	–	–	107	119	98	104
Sujet 5	194	194	238	238	80	86	111	115	108	110
Sujet 6	168	194	228	230	74	80	111	117	102	102
Sujet 7	168	194	230	238	74	80	111	117	102	108
Sujet 8	168	194	228	238	80	86	111	115	102	110
Sujet 9	168	194	232	238	58	60	105	117	102	118
Sujet 10	198	192	240	240	74	74	105	105	102	102
Sujet 11	168	194	–	–	74	58	–	–	102	102
Sujet 12	192	198	198	226	68	78	93	93	84	116
Sujet 13	188	192	224	236	84	88	115	119	116	116
Sujet 14	168	192	224	226	78	88	93	115	116	82
Sujet 15	–	–	226	236	68	84	93	119	82	116
Sujet 16	190	198	228	238	–	–	–	–	118	120
Sujet 17	192	196	226	228	–	–	–	–	104	108
Sujet 18	190	196	226	228	–	–	–	–	108	120

de l'allèle β^s , a mis en évidence 2 homozygotes et 11 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 13 formes alléliques dont les allèles les plus fréquents sont celui de 80pb et celui de 74pb, (Figure 3).

L'analyse du marqueur **D14S68 (PVIII)** chez 14 porteurs de l'allèle β^s , a mis en évidence 2 homozygotes

et 14 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 8 formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 119pb, (Figure 4).

L'analyse du marqueur **D18S1147 (PXIII)** chez 18 porteurs de l'allèle β^s , a mis en évidence 4 homozygotes et 14 hétérozygotes, (Tableau 3). Il se présente sous 11

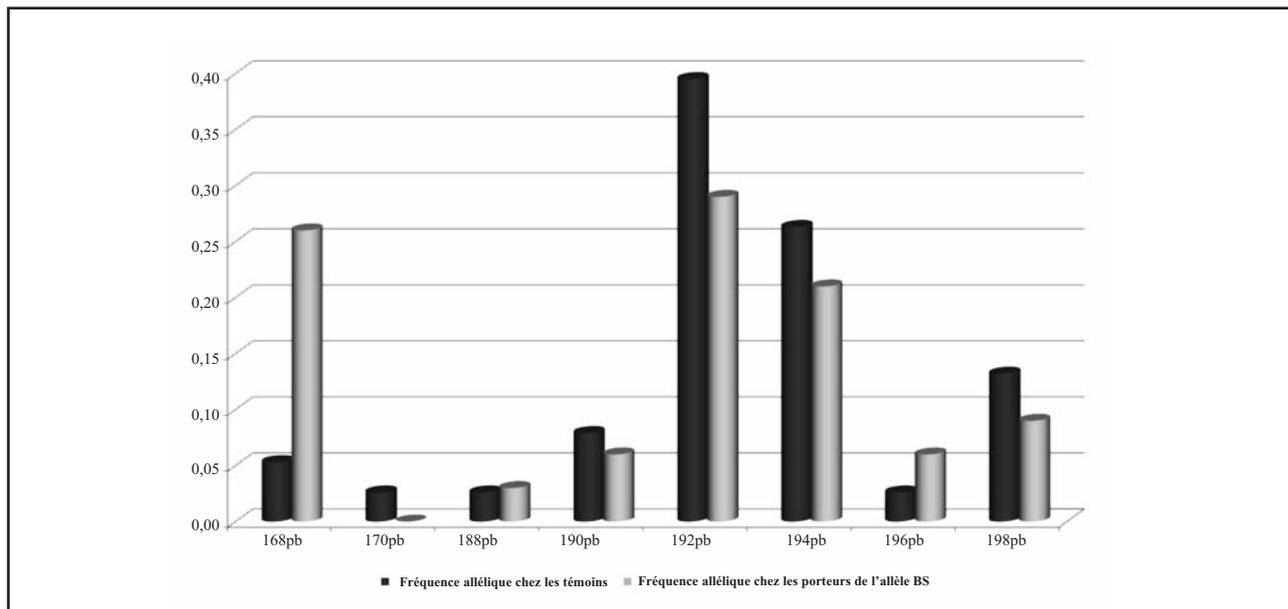


Figure 1 : Répartition des allèles du marqueur D14S261, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle β^S , selon leur fréquence allélique

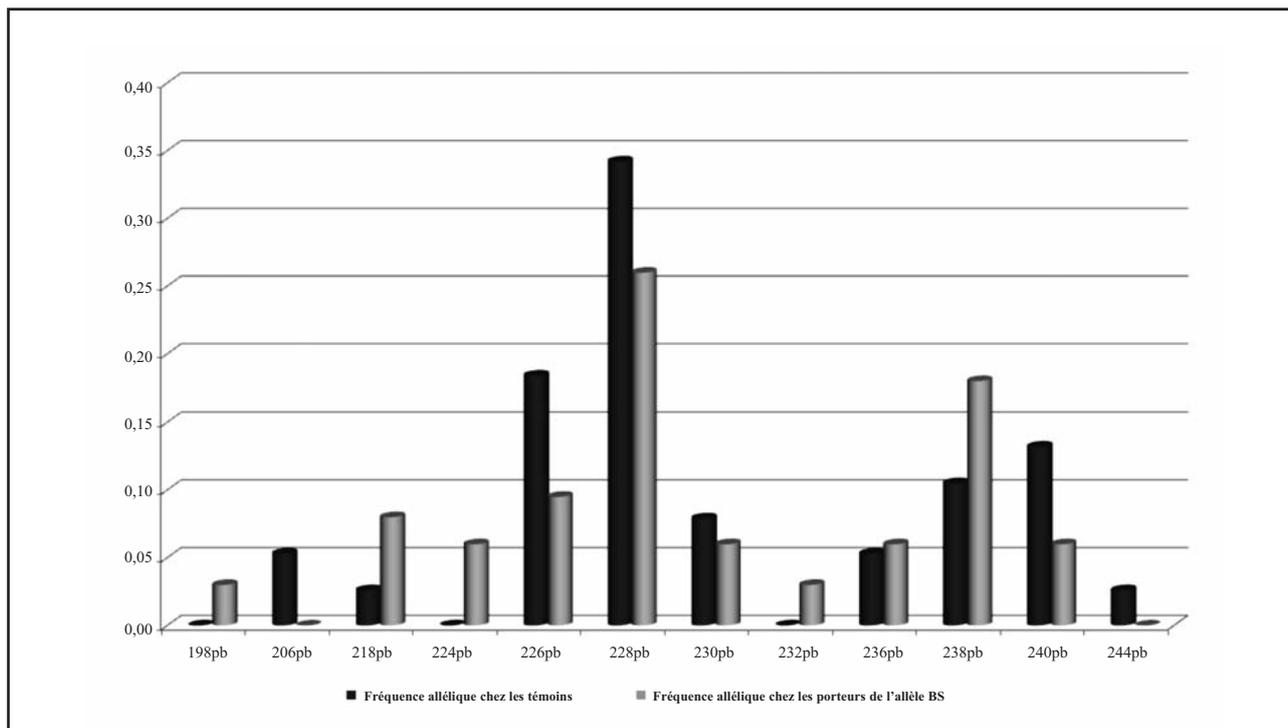


Figure 2 : Répartition des allèles du marqueur D14S72, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle β^S , selon leur fréquence allélique

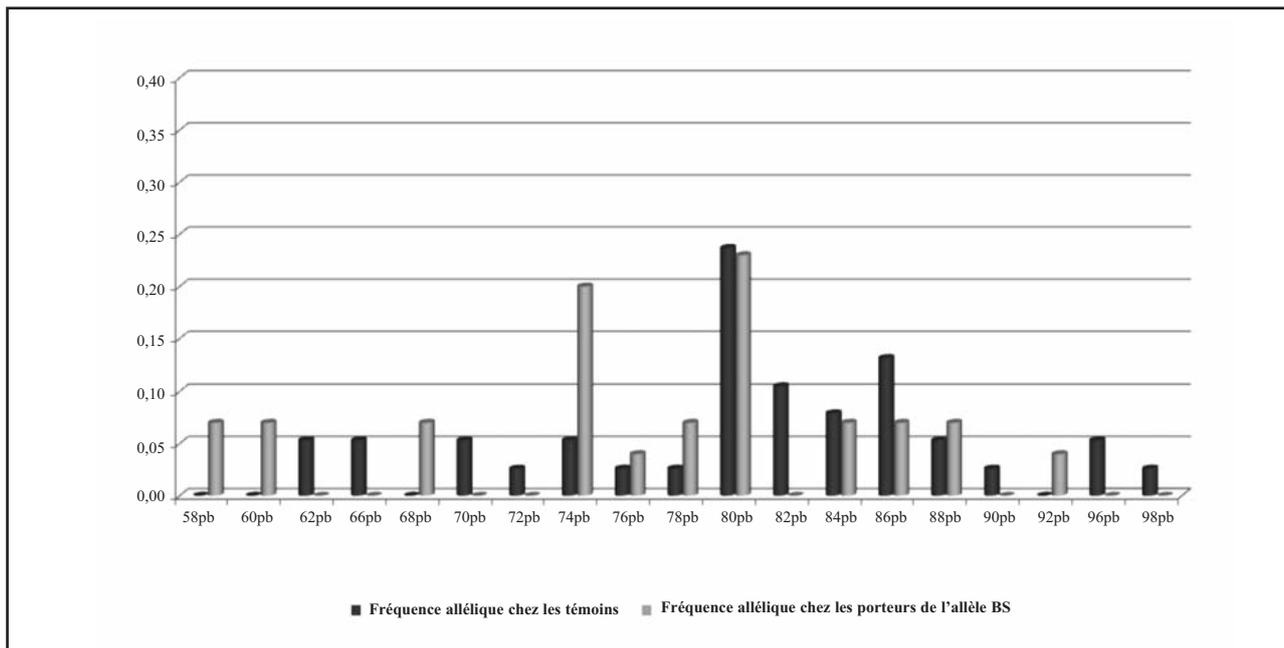


Figure 3 : Répartition des allèles du marqueur D14S990, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle β^s , selon leur fréquence allélique

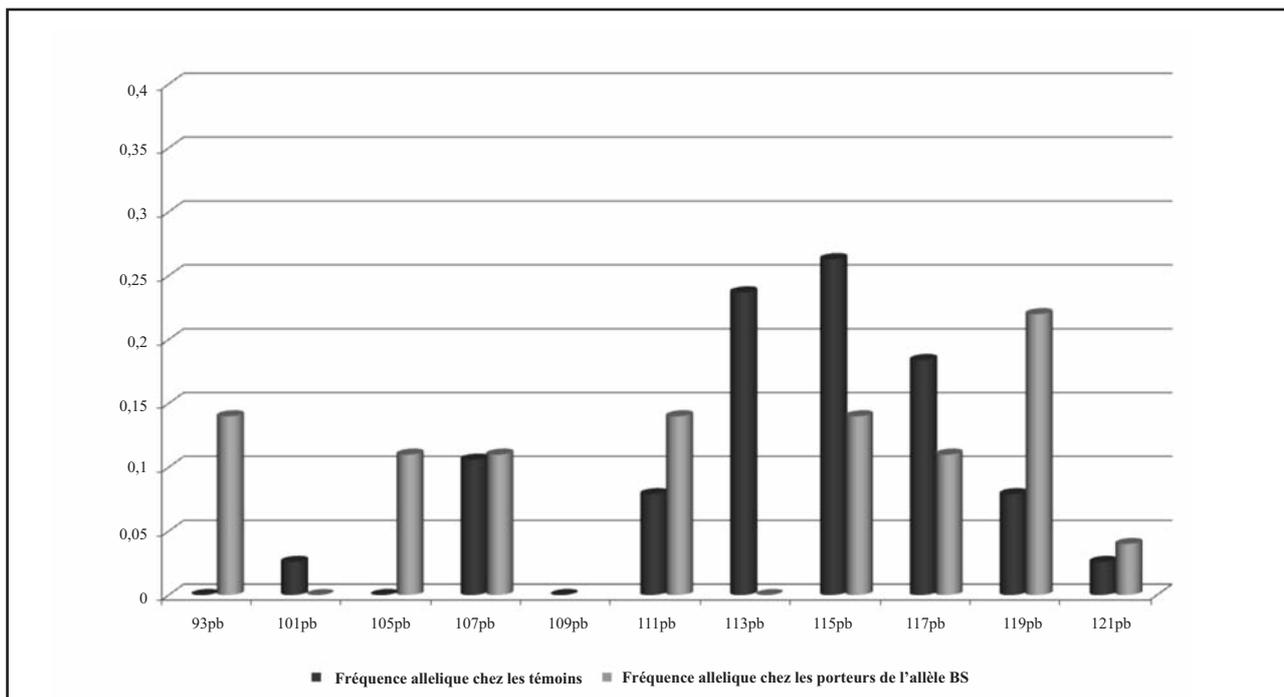


Figure 4 : Répartition des allèles du marqueur D14S68, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle β^s , selon leur fréquence allélique

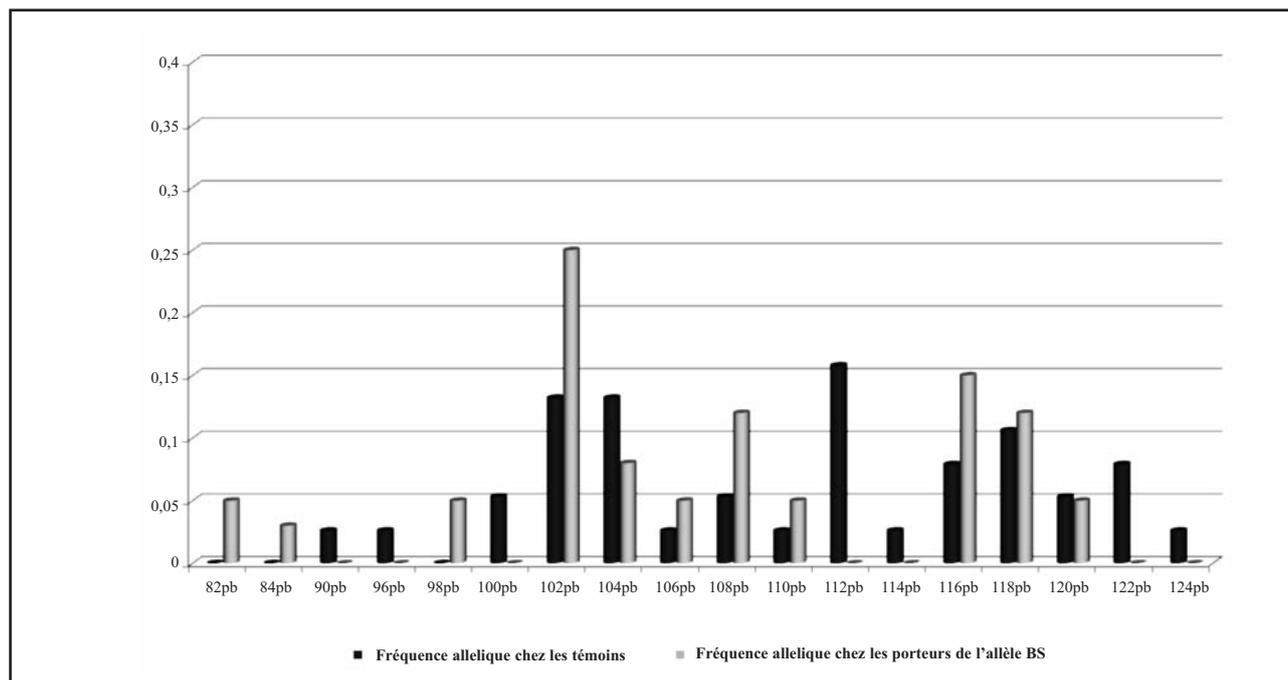


Figure 5 : Répartition des allèles du marqueur D18S1147, chez les témoins et chez les porteurs de l'allèle β^s , selon leur fréquence allélique

formes alléliques dont l'allèle le plus fréquent est celui de 102pb, (Figure 5).

Discussion

• Analyse des microsatellites dans la population de témoins tunisiens

La comparaison entre les taux d'hétérozygotie observés et les taux d'hétérozygotie attendus (Tableau 4) a montré un écart significatif pour 2 des 5 marqueurs microsatellites étudiés chez le groupe témoin. Ces écarts

pourraient être expliqués par les facteurs influençant l'Equilibre de Hardy Weinberg (HWE) tels que :

- Des degrés élevés de consanguinité dans la population tunisienne, typiques des traditions de la société arabo-musulmane (16).
- L'effet fondateur pour ces marqueurs de par la position géographique de la Tunisie, terre d'émigration et d'asile, et le mixage de la population.

Le fait que sur les 5 microsatellites étudiés seuls 2 n'étaient pas en équilibre pourrait amener à s'interroger

Tableau 4 : Le taux d'hétérozygotie de chaque marqueur dans la population témoin tunisienne

	Nombre d'allèles	taux d'hétérozygotie observé (Hu)	taux d'hétérozygotie attendue (Hexp)	χ^2 Calculé	Z Calculé
D14S261	8	0,63	0,74	0,665	1,093
D14S72	9	0,57	0,80	17,241	2,506
D14S990	15	0,89	0,89	0,086	0,000
D14S68	8	0,63	0,81	2,856	2,000
D18S1147	15	0,78	0,90	1,497	1,743

Z Calculé ≥ 2 : différence significative

sur la validité des résultats mais ce type de situation a déjà été rapporté dans une étude de 103 microsatellites dans une population d'un village du Sud Tunisien ou 3 marqueurs (D2S159, D4S2983, D5S408) étaient en écart par rapport HWE, cela pourrait être expliqué par la dérive au hasard dans la population tunisiennes, et/ou un taux élevé d'endogamie (17).

De même, une étude similaire concernant la population balinaise, a relevé une différence significative par rapport à HWE pour 28 des 53 microsatellites étudiés, ce nombre élevé de marqueur en écart au HWE était justifié par le statut d'isolat de l'île de Bali (18).

Par ailleurs, un écart non significatif des taux d'hétérozygoties observés par rapport aux taux d'hétérozygoties attendues pour 3 des 5 marqueurs microsatellites a été relevé. D'une part, ces taux d'hétérozygoties pourraient être pris comme base pour l'évaluation de la diversité génétique de notre population, et d'autre part les microsatellites les plus polymorphes seraient utiles dans les recherches médico-légales, dans les tests de recherche d'une contamination par cellules maternelles, dans le cas d'un diagnostic prénatal.

Ainsi, selon les résultats obtenus, les marqueurs les plus polymorphes présentant le taux d'hétérozygotie le plus élevé sont **D14S261**, **D14S990** et **D18S1147**. Ils seraient les plus informatifs pour l'analyse de la MCC «maternel cell contamination» au cours du diagnostic prénatal.

• Répartition des microsatellites chez les porteurs de l'allèle β^s

La comparaison des fréquences alléliques, des marqueurs D14S72, D14S990 et D18S1147, entre les témoins et les porteurs d'HbS moyennant le test exact de Student corrigé par le test de Fisher, n'a pas montré de différence significative entre les témoins et les porteurs de l'allèle β^s . Toutefois, la comparaison des fréquences alléliques des marqueurs D14S261 et D14S68, moyennant le test exact de Student corrigé par le test de Fisher (effectif réduit), a montré une différence significative de la fréquence de l'allèle 168pb du marqueur D14S261 (test de Student $P = 0,005$) entre les témoins et les porteurs d'HbS. Ce même test était significatif entre les témoins et les drépanocytaires homozygotes (Propositus) pour le

même allèle de 168pb ($P = 0,006$). Par ailleurs une autre différence significative de la fréquence de l'allèle 113pb (test de Student $P = 0,008$) du marqueur D14S68 entre les témoins et les porteurs d'HbS, a été signalée.

L'allèle 113 du marqueur microsatellite D14S68 est absent chez les porteurs de l'allèle β^s ; sa présence concomitante avec l'allèle β^s , pourrait être à l'origine d'une forme létale ce qui est peu probable. L'hypothèse la plus plausible est que cet allèle n'a pas la même origine que les drépanocytaires tunisiens, une population quasi uniforme. En effet, une étude antérieure a montré que 94% des drépanocytaires homozygotes répondaient à l'haplotype Bénin (19), ces chiffres sont de 100% dans la région Kebilli (20).

L'allèle 168 du marqueur microsatellite D14S261 montre une association avec l'allèle β^s . Cette association pourrait être expliquée :

- Soit par le fait qu'il s'agit d'une association ancestrale : ainsi en arrivant en Tunisie les premiers porteurs de l'allèle β^s portaient aussi l'allèle correspondant au fragment amplifié de taille 168pb du D14S261. Ceci est en accord avec l'origine quasi unique de l'allèle drépanocytairien en Tunisie (19, 20).

- Soit que l'allèle 168 du D14S261 soit associé à un caractère qui avantagerait les porteurs de l'allèle β^s .

Ce phénomène nous rappelle celui des porteurs du trait drépanocytairien qui sont en partie protégés contre les formes létales du paludisme à *P. falciparum* (21). Le rôle sélectif du Plasmodium a été évoqué, procurant un avantage de survie aux hétérozygotes AS par rapport aux individus sains non porteurs de l'allèle β^s . Ce phénomène de polymorphisme équilibré a été formalisé en 1964 (22). Des observations ultérieures ont montré une sélection analogue pour d'autres hémoglobinopathies, telles que l'HbC ou l'HbE, α - ou β -thalassémies, des enzymopathies et des mutations des protéines du squelette. Les mécanismes en cause sont encore imparfaitement connus (23) et l'allèle correspondant au fragment amplifié de taille 168pb du D14S261, pourrait y être impliqué.

Conclusion

Les 5 marqueurs microsatellites étudiés chez les porteurs de l'allèle β^s et chez les témoins n'ont pas mis en

évidence les mêmes allèles.

La comparaison entre la répartition des allèles des microsatellites selon les fréquences alléliques entre la population témoin et la population des porteurs d'HbS a révélé d'une part l'absence de l'allèle 113 du marqueur D14S68 chez les porteurs de l'allèle β^s , et d'autre part une association de l'allèle 168 du marqueur microsatellite D14S261 à l'allèle β^s .

Une étude similaire sur une plus grande cohorte conforterait nos hypothèses et devrait être complétée par l'exploration des gènes entourant le marqueur microsatellite révélé par le présent travail à la recherche de SNP au niveau des gènes associés à la présence ou l'absence des allèles β^s .

Références

- Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle cell anemia : a molecular disease. *Science*, 1949, 110, 543-548.
- Labie D, Elion J. Bases moléculaires et physiopathologie des maladies de l'hémoglobine. Elsevier SAS, 2005; 1-14
- Weatherall DJ & Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders : an increasing global health problem. *Bulletin of the World Health Organization*, 2001; 79: 704-712.
- Galactéros F, Girot R. Prise en charge des syndromes thalassémiques majeurs. *Maladies héréditaires du globule rouge*. Doin. Paris. 1984; 8 : 165-178.
- Fatoum S. Les hémoglobinopathies en Tunisie. *Revue actualisée des données épidémiologiques et moléculaires*. Tunisie Médicale, 2006 ; 84: 687-696.
- Slatkin M. Hitchhiking and associative overdominance at a microsatellite locus. *Mol Biol Evol*, 1995; 12: 473-480.
- Moxon E R, Wills C. DNA microsatellites : agents of evolution ? *Scient Am*, 1999; 72-77.
- Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet*. 1989; 44, 388-396.
- Buetow KH, Weber JL, Judwigsen S, Scherpbier-Heddema T, Duyk GM, Sheffield VC, Murray JC. Integrated genome-wide maps constructed using the CEPH reference panel. *Nat Genet*, 1994; 6:391-393
- Gyapay G, Morissette J, Vignal A, Dib C, Fizames C, Millasseau P, Marc S, Bernardi G, Lathrop M, Weissenbach J. The 1993-94 Genethon human genetic linkage map. *Nat. Genet*. 1994; 7, 246-339.
- Matisse TC, Perlin M, Chakravarti A. Automated construction of genetic linkage maps using an expert system (MultiMap) : a human genome linkage map. *Nat. Genet*. 1994 ; 6, 384-390.
- Bowcock A M, Ruiz-Linares A, Tomfohrde J, Minch E, Kidd JR, Cavalli-Sforza LL. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites. *Nature*. 1994 ; 368, 455-457.
- Fregeau C J, Fourney R M. DNA typing with fluorescently tagged short tandem repeats: a sensitive and accurate approach to human identification. *Biotechniques*. 1993; 15, 100-119.
- Gill P, Ivanov PL, Kimpton C, Piercy R, Benson N, Tully G, Evett I, Hagelberg E, Sullivan K. Identification of the remains of the Romanov family by DNA analysis. *Nat. Genet*. 1994 ; 6, 130-135.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*. 1989; 2nd Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Riou S, el Younsi C, Chaabouni H. Consanguinity in the population of northern Tunisia. *Tunis Med*. 1989; 67: 167-72.
- Maalej A, Makni H, Ayadi F, Bellassoued M, Jouida M, Jouida J, Bouguacha N, Abid M, Ayadi H. A full genome screening in a large tunisian family affected with thyroid autoimmune disorders. *Genes. Immun*. 2001; 2, 71-75.
- Morell R, Liang Y, Asher JH, Jr, Weber JL, Hinnant JT, Winata S, Arhya IN, Friedman TB. Analysis of short tandem repeat (STR) allele frequency distributions in a Balinese population. *Hum. Mol. Genet*. 1995; 4, 85-91.
- Abbes S, Fattoum S, Vidaud M, Goossens M, Rosa J. Sickle cell anemia in the Tunisian population : haplotyping and Hb F expression. *Hemoglobin*. 1991; 15, 1-9.
- Frikha M, Fakhfakh F, Mseddi S, Gargour J, Ghali L, Labiadh L, Harrabi M, Souissi T, Ayadi H. Hemoglobin beta S haplotype in the Kebili region (southern Tunisia). *Transfus Clin Biol*. 1998; 5: 166-72.
- Nagel RL, Labie D. La résistance innée au paludisme due aux anomalies de l'hémoglobine. *Hématologie*. 2002; 8: 405-413.
- Allison AC. Polymorphism and natural selection in human populations. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1964; 24 : 137-49.
- Labie D. Il y a des thalassémies qui quittent les gènes globines. *Hématologie*. 2002. Septembre - Octobre ; 8 (5).