

Arbres décisionnels pour le diagnostic et la caractérisation moléculaire des hémoglobinopathies

Réseau D.H.O.S. « Pathologie héréditaire de l'érythrocyte »



Les hémoglobinopathies, principalement représentées par les syndromes drépanocytaires et thalassémiques, sont parmi les anomalies génétiques les plus fréquentes dans le monde. En raison des flux importants de populations provenant d'Afrique, du Moyen-Orient et d'Asie, leur nombre est croissant en France, surtout à proximité des grands centres urbains.

Les laboratoires de biologie médicale ont un rôle capital dans le diagnostic phénotypique des hémoglobinopathies. Afin que ce diagnostic soit de qualité, une procédure méthodologique et un rendu des résultats optimisés doivent être mis en oeuvre. Si nécessaire, et après avis du clinicien, la caractérisation moléculaire précise des anomalies en cause pourra ensuite être effectuée par des laboratoires spécialisés. En France, actuellement, 6 laboratoires regroupés sous la forme d'un réseau subventionné par la D.H.O.S. intitulé « Pathologie héréditaire de l'érythrocyte » effectuent ces analyses spécialisées.

Ces 6 laboratoires ont confronté leurs pratiques et, sur la base de celles-ci, proposent des arbres décisionnels pour le diagnostic phénotypique et la caractérisation moléculaire des principales pathologies héréditaires du globule rouge.

Arbres décisionnels

Etude de l'hémoglobine : réalisation et interprétation des cas simples

Bilan standard : B120 (N.A.B.M. 1120) pour 3 techniques minimum :

- CLHP par échange de cations
- Focalisation isoélectrique / Electrophorèse de l'Hb (EH) capillaire ou à pH alcalin
- Test d'Itano (HbS, HbC), CLHP des chaînes de globine / EH à pH acide

NS standard : indices érythrocytaires (VGM, TCMH, RDW); réticulocytes (si possible)

Bilan martial et origine géographique

Profil normal et :
HbA₂ < 3.4 %
HbF < 1.0 %
TCMH > 27 pg

Anomalie qualitative simple : HbS, HbC ou HbE avec présence d'HbA

Taux d'expression (%) habituels pour un porteur du trait :
- Hb S : 33 à 40%
- Hb C : 30 à 40%
- Hb E : 25 à 30%

Taux d'expression habituel du variant X (%)

Taux d'expression abaissé du variant X (%)

Contexte clinique et biologique

Profil de l'Hb normal

Présence du variant X à l'état hétérozygote

Variant X à l'état hétérozygote avec une probable α -thalassémie associée. Proposer l'analyse moléculaire.

Anomalies qualitatives complexes de l'Hb : laboratoires de référence

Variants fréquents homozygotes ou surexprimés (ex : HbS, HbC, HbE, etc.)

Variants rares :

- identifiables par CLHP (ex: Hb Hope, Hb O^{Arab})
- séquençage α , β , (γ , δ) dans les autres cas

Base de données HbVar : <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/menu.html>

Variant bêta – Rechercher en trans :

- une mutation β^0 -thal ou une délétion du gène β si aspect d'homozygotie.
- une triplification alpha ou une mutation β^+ -thal si taux élevé du variant.

Variant alpha – Rechercher en trans :

- une alpha-thal. délétionnelle ou mutationnelle si taux élevé du variant

Si possible : Etude phénotypique des parents

Variant décrit dans HbVar

Si possible : étude des parents

Variant non décrit dans HbVar

Si taux inhabituel ou aspect homozygote

Si possible : tests fonctionnels - tests de stabilité

Précision des génotypes :

β^x / β^x ; β^x / β^0 ou β^+ -thal; $\beta^x / \beta^x + \alpha$ -thal ...

Cas des génotypes composites (S/C; S/D; S/E; S/Hope; ...): Cf. littérature

Avis clinicien

Bilan à proposer si syndrome drépanocyttaire majeur :

- Recherche α -thalassémie associée
- Dosage biochimique et/ou génotypage G6PDH
- Polymorphisme UGT1A1

Présence d'HbH (β_2) et HbA₂ basse au phénotype. Rechercher :

- α -thal délétionnelle
- α -thal mutationnelle

Anomalies quantitatives de l'HbA₂ (sans carence martiale)

TCMH < 27 pg

TCMH > 27 pg

Eliminer autres causes d'anémie

HbA₂ < 3.4 %

HbA₂ > 3.4 % +/- HbF β^+

HbA₂ > 3.4 %

HbA₂ < 2.0 %

Origine géographique

Etude familiale

- α -thalassémie

- $\delta\beta$ -thalassémie

- rares cas de β -thalassémie

- association α -thal / β -thal

- association β -thal / δ -thal

Avis clinicien

Conseil génétique

• Si Hb > 10 g/dL +/- HbF < 5% β -thalassémie hétérozygote

• Si Hb < 10 g/dL +/- HbF > 5% β -thalassémie homozygote ou hétérozygote composite ou association β -thal / $\alpha\alpha$

Avis clinicien

Conseil génétique

Eliminer causes acquises :

- Trithérapie VIH

- Pbs thyroïdiens

- Carence vit. B12, folates

β -thal silencieuse

δ -thalassémie

Avis clinicien

Conseil génétique

L'identification moléculaire précise des anomalies en cause est généralement indispensable dans les cas suivants :

- Conseil génétique pour un diagnostic prénatal d'hémoglobinopathie
- Phénotype hématologique de thalassémie majeure ou intermédiaire

Anomalies quantitatives de l'HbF (âge supérieur à 2 ans)

HbF > 1%
HbA₂ normale et TCMH > 27 pg

HbF > 5%
HbA₂ diminuée et/ou TCMH < 27 pg

Rapport γ / γ (> 1)

Rapport γ / γ de type fœtal (< 1)

Présence d'une élévation modérée de l'HbF

Contexte clinique

Eliminer cause acquise :

- stress anémique

- perturbation de l'érythropoïèse

- diabète

- grossesse

- chimiothérapie

Avis clinicien

Conseil génétique

Orientation vers une Persistance Héréditaire de l'Hémoglobine Fœtale (PHHF) ou un $\delta\beta$ -thal. délétionnelle.

PHHF hétérozygote : HbF de 15 à 35%; TCMH normal

$\delta\beta$ -thal hétérozygote : HbF de 5 à 15%; TCMH < 27 pg

Diagnostic différentiel par caractérisation de la délétion :

Importance ++ pour le conseil génétique car phénotypes très différents à l'état homozygote ou hétérozygote composite avec une autre mutation β -thalassémique.

- PHHF homozygote : phénotype hématologique normal

- $\delta\beta$ -thalassémie homozygote : phénotype de β -thal. majeure ou intermédiaire

Avis clinicien

Conseil génétique

Analyses génotypiques complémentaires possibles si recherches précédentes négatives :

- Polymorphisme Xmn1 : associé à l'augmentation du taux d'HbF en cas de stress hématopoïétique
- Autre PHFH mutationnelle sur le cluster β : cis-acting factors (littérature)
- Quantitative Traits Locus (QTLs) sur les chromosomes X, 6, 2 : trans-acting factors (littérature)

Recherche orientée d'Hb instable ou hyperaffine

Contexte clinique : polyglobulie vraie inexpiquée, anémie hémolytique régénérative
Bilan d'hémolyse : haptoglobine effondrée, hyperbilirubinémie, LDH augmentée, corps de Heinz, réticulocytes (suspicion d'Hb instable)

Envoi Labo de référence

Techniques phénotypiques :

Hb instable : test à l'isopropanol, test à la chaleur

Hb hyperaffine : 2,3-DPG (Kit commercial)
Hemo Analyzer (Lyon, Mondor, Marseille)
Appareil de GDS pour calcul p50

Corrélations phénotype / génotype

Technique génotypique de confirmation : identification du variant β ou α (séquençage)

Conclusion

Ces arbres sont applicables à tout patient ayant atteint une érythropoïèse adulte (âge supérieur à 2 ans). Leur utilisation et leur interprétation correcte doit venir en aide aux cliniciens et biologistes et les sensibiliser aux faits que :

- L'utilisation de deux ou trois techniques minimum doit être la règle pour le diagnostic des hémoglobinopathies. L'électrophorèse de l'hémoglobine, bien qu'encore inscrite en tant que telle à la N.A.B.M., est très insuffisamment utilisée seule et devrait être abandonnée si elle ne s'accompagne pas d'une ou plusieurs techniques complémentaires. En cas d'incertitude diagnostique, il est vivement recommandé de demander conseil en envoyant l'échantillon à un laboratoire de référence.
- Les paramètres cliniques, biologiques, ethniques et hématologiques sont indispensables pour une interprétation correcte des résultats.
- La caractérisation génotypique d'une anomalie de l'hémoglobine est généralement indispensable dans le cas d'un phénotype complexe ou dans le cadre d'un conseil génétique en vue du diagnostic prénatal de drépanocytose et de thalassémie β ou α .