CCO Médecine moléculaire

Cours n°2

KHALIFA Sarah

**HEMOGLOBINOPATHIE**

Les hémoglobinopathies sont des **maladies monogéniques**, le plus souvent à transmission récessive, et plus rarement à transmission dominante. Ce sont des maladies génétiques très répandues dans le monde. Ces maladies présentent un **spectre clinique continu**, ça veut dire que dans la population atteinte on trouve aussi bien des porteurs sains que des mutations totalement incompatibles avec la vie (mort in utéro ou durant les premières heures de la vie).

|  |
| --- |
| Petit rappel de la structure de l’hémoglobine (Hb) normale :   * Hb adulte aussi appelée HbA qui est un tétramère, est constituée de 2 chaines de globine α et 2 chaines de globine β. C’est une hémoprotéine, composée de 4 chaines de globines qui portent chacune un hème , lui-même capable de fixer une molécule d’oxygène. Du coup si on sait compter une molécule d’Hb est capable de fixer 4 molécules d’oxygène. * Hb fœtale est elle constituée de 2 chaines de globine α et de 2 chaines de globine gamma |

Les hémoglobinopathies résultent de deux types d’anomalies :

-les anomalies structurales de l’Hb (anomalies qualitatives) et les anomalies de synthèse de l’Hb (anomalies quantitatives) représentantes des thalassémies.

La différence clinique de ces maladies n’est pas tant dans le défaut moléculaire (qui est similaire d’une maladie à une autre), mais plus dans les différentes physiopathologies qui sont elles très nombreuses. On peut également trouvé des défauts mixtes, où il y a une anomalie fonctionnelle de la protéine et un défaut de la quantité de cette protéine (en gros anomalie quantitative et qualitative) .

**I Thalassémie**

1. Les β thalassémies

Les β thalassémies sont caractérisées par un défaut de synthèse des chaines de globine β.

Ce défaut de synthèse peut être soit complet, dans ce cas on a une β° (β zéro) thalassémie, soit être incomplet avec une synthèse insuffisante de la chaine β, dans ce cas on a une β+ thalassémie.

Dans un cas comme dans l’autre on a un déséquilibre du rapport α/β. En effet, normalement on a une quantité de globine α identique à celle de la globine β, qui s’associent ensemble pour former un tétramère. Si on a plus de globine α que de globine β, et ben les globines α restent toutes seules, elles sont en excédent. Or les chaines de globines α seules sont instables dans les globules rouges (GR). Les chaines α vont former des précipités, appelés corps de Heinz, qu’on peut voir à la surface de la membrane des GR en microscopie. La formation de ces corps de Heinz entraine une érythropoïèse (production des GR) inefficace, en plus d’une hémolyse du GR aussi bien au sein de la moelle hématopoïétique qu’au sein de la circulation sanguine. En fait c’est plus l’excès de globine α que le défaut de globine β qui est responsable de la maladie.

Le signe majeur de la thalassémie est bien sûr l’anémie, qui s’accompagne par des déformations osseuses, notamment de la face, mais également par une surcharge en fer et une susceptibilité aux infections.

Pour compenser l’anémie, il y a persistance de la production de Hbγ (Hb fœtale) pour essayer de compenser le manque d’Hb fonctionnelles, mécanisme qui est plus ou moins efficace.

1. *Les mutations ponctuelles*

Les mutations les plus répandues pour les β thalassémies sont les mutations ponctuelles.

Le gène codant pour la chaine de globine β est constitué de 3 exons séparés par 2 introns.

* Au niveau du promoteur du gène, dans ce cas on aura une production de globine β mais en défaut, on a donc des β+ thalassémies.
* Au niveau de la région codante :

- **Mutations nulles** qui s’accompagnent de l’absence de la synthèse de protéine, avec apparition d’un codon STOP, du coup la chaine de globine est écourtée, instable et non fonctionnelle

- **Décalage du cadre de lecture** avec apparition d’un codon STOP, avec les mêmes conséquences que pour les mutations nulles

Ces 2 types de mutations aboutissent à des β° thalassémies

* Clivage de la chaine de polyadénylation, entrainant un ARN non mature, mais synthèse de protéines, qui aboutit à une β+ thalassémie
* Mutation du site d’initiation de la transcription, qui entraine un défaut de la production de protéines, on a donc une β+ thalassémie
* Mutation des zones d’épissages, qui entraine des ARN mal maturés, qui peuvent avoir pour conséquence soit une non synthèse, ou une synthèse de protéines non fonctionnelles, on peut donc avoir des β° thalassémies ou des β+ thalassémies.
* Mutations au niveau du codon STOP avec une protéine trop longue qui devient instable et donc non fonctionnelle, on a un défaut mixte ici

1. *Les délétions*

Il existe des mutations plus rares de type délétions qui ont lieu sur les gènes structuraux.

En effet, le gène de la globine β fait partie d’une famille de gènes, qui se trouve sur le même chromosome. Cette famille de gènes code pour la globine β, mais aussi pour les globines ε (Hb fœtal), γ (codées par 2 gènes) et δ (globine faisant partie des Hb adultes, mais minoritaire).

En amont de cette famille de gènes se trouve un locus qui est une zone de régulation, qui est fait l’objet d’une grande délétion, qu’on appelle délétion hispanique. Cette délétion hispanique enlève une partie ou toute la zone de régulation, ce qui a pour effet notamment d’abolir l’expression du gène de la globine β.

1. *Physiopathologies*

La β thalassémie majeure est l’anémie de Cooley. Il existe plus de 200 mutations pour cette maladie.

C’est une maladie incompatible avec la vie, à moins de faire des transfusions sanguines régulières (tous les mois), pour éliminer le fer en excès. C’est une maladie strictement transfuso-dépendante.

Si les transfusions ne sont pas bien faites régulièrement, on a une anomalie morphologique osseuse, surtout au niveau de la face qui se présente par un front bombé, des dents mal placées, des pommettes saillantes, une anomalie du maxillaire supérieur. Cette anomalie morphologique est due à une moelle hématopoïétique hypertrophiée inefficace.

Il existe des β thalassémies intermédiaires, dues à des mutations dites bénignes dans le promoteur du gène ou du signal de polyadénylation, qui donnent des maladies moins sévères et qui demande donc une thérapeutique moins lourde, des transfusions sanguines mais pas sur une base régulière.

1. *Epidémiologie des β thalassémies*

Le pourtour méditerranéen est une région sensiblement touchée par les mutations responsables des β thalassémies (d’où d’ailleurs le nom donné à cette maladie). La Grèce, le Maghreb, le sud de l’Europe sont des zones où on trouve beaucoup de mutations, mais également dans la péninsule Arabique, dans le sud est de l’Asie et l’Afrique de l’ouest. Dans certaines régions, on a des mutations qui sont plus fréquentes que dans d’autres régions, ce qui facilite un diagnostique.

Ces mutations sont plus ou moins fréquentes selon les ethnies, et sont très diversifiées, ce qui fait qu’on a un continuum clinique entre les formes majeures sévères et les formes intermédiaires (la grande hétérogénéité clinique dépend de la distribution des allèles).

B- Les α thalassémies

*a) Caractéristiques*

Il existe 4 gènes α qui codent pour la globine α. Ces 4 gènes sont normalement fonctionnels chez un individu sain.

Dans les α thalassémies on a un continuum qui est encore plus étendu que les β thalassémies, dû au nombre de gènes α.

Un sujet dont seuls 3 de ces gènes sont fonctionnels est asymptomatique.

On peut avoir un sujet avec seulement 2 gènes fonctionnels. Ces 2 gènes peuvent être exprimés soit sur le même chromosome, soit sur chacun des deux chromosomes homologues. Dans un cas comme dans l’autre, le phénotype reste le même, c'est-à-dire un phénotype presque normal avec un VGM un peu plus faible que la normale d’environ 60µ³, dû à des GR petits, en forme de micro-cytose.

Le sujet dont seul 1 gène est fonctionnel, est atteint d’une α thalassémie sévère. Puisqu’il y a très peu de globine α produite, il va y avoir une production accrue en globine β et γ, qui vont former des tétramères instables, qu’on appelle HbH. Les HbH sont peu utiles et tendent à précipiter.

Par contre le génotype avec zéro gène fonctionnel est incompatible avec la vie, on a des fœtus hydrops fetalis, qui sont pour la plupart des fœtus morts in utéro, ou encore des morts nés. Ce génotype est spécialement présent dans les populations du sud-est de l’Asie.

*b) Génotype*

Les 2 chromosomes homologues sont porteurs chacun de deux gènes α, α1 et α2.

Dans le cas où le sujet porte seulement 2 gènes, la configuration de la disposition de ces gènes est importante.

En effet, si les 2 parents porte chacun leurs 2 gènes sur chacun de leurs chromosome, alors le risque que l’enfant soit atteint est nul.

En revanche, si l’un des 2 parents présente les 2 gènes sur le même chromosome et que l’autre parent présente les 2 gènes sur chacun de ses chromosome, alors il y a 1 chance sur 2 que l’enfant à naitre soit atteint.

Dans les régions où les mutations de thalassémies sont fréquentes, il est possible de faire des dépistages prénatales, ou même des interruptions de grossesse.

c) *Epidémiologie*

La distribution géographique des mutations responsables de l’α thalassémie est un peu près la même que celle de la β thalassémie, c'est-à-dire le pourtour méditerranéen, l’ouest de l’Afrique, le sud-est de l’Asie, en plus de l’Indonésie, des Philippines, et la Nouvelle Guinée.

Depuis quelques années, on s’est rendu compte que les sujets porteurs sains des mutations aux β et α thalassémies sont plus résistants au paludisme que les sujets sains. Les mutations responsables des thalassémies constituent un avantage sélectif pour ces populations des régions où sévit ou a sévit le paludisme.

**II L’Hb anormale**

1. Classifications des variants de l’Hb

La structure tridimensionnelle normale de la molécule d’Hb permet de détecter les anomalies de la molécule. L’Hb normale est un tétramère de 2 chaines de globine α et de 2 chaines de globine β. Cette structure peut subir des modifications qui vont altérer le bon fonctionnement de la protéine.

Différentes anomalies existent :

* Les anomalies de la poche de l’hème :

La poche de l’hème est le site de fixation de l’hème, c’est aussi le site de fixation de l’oxygène. La modification de la structure de cette poche modifie l’affinité de l’Hb pour l’oxygène. Le complexe Hb-Oxygène est donc instable, il forme un précipité dans le GR qui entraine des anémies hémolytiques, avec les membranes des GR lésés.

Il peut également y avoir des modifications dans l’interaction Hb-fer, avec les Hb-hème dont le fer normalement ferreux Fe²+ devient ferrique Fe³+. Ces molécules d’Hb deviennent incapables de transporter le dioxygène.

* Les anomalies de la cavité centrale :

La cavité centrale est le site de fixation des molécules régulatrices, notamment le 2,3DPG. Le 2,3DPG a pour rôle de diminuer l’affinité des molécules d’oxygène pour l’Hb au niveau des tissus périphériques, ce qui a pour effet d’améliorer le relargage de l’oxygène au niveau des tissus périphériques.

Des anomalies sur le site de fixation du 2,3DPG diminuent l’affinité de l’Hb pour le 2,3DPG. L’Hb a donc une affinité trop importante pour le dioxygène, qui n’est plus relarguer correctement au niveau des tissus. Il y a ainsi une anomalie dans le transport de l’oxygène, avec des tissus mal oxygénés.

* Les anomalies de zone de  contact :
* La molécule d’Hb présente une structure tridimensionnelle avec des zones de contact entre les globines α1 et β1 d’une part, et les chaines de globines α2 et β2 d’autre part. Cette disposition des globines assure la stabilité de la protéine.

S’il y a une mutation dans la séquence d’acides aminés de ces zones de contact, on va avoir une structure tridimensionnelle de ces zones modifiée, qui a pour conséquence une molécule d’Hb instable.

* La structure tridimensionnelle présente également des zones de contact entre les globines α1 et β2 d’une part, et α2 et β1 d’autre part. Ces zones de contact sont des zones de la transition allostérique. Des modifications dans la séquence d’acides aminés de ces zones de contact entrainent une profonde altération de l’activité allostérique, qui se révèle par une affinité anormale pour l’oxygène.
* Soit on a une affinité trop forte pour l’oxygène, au quel cas on un relargage au niveau des tissus périphériques peu efficace, donc une mauvaise oxygénation des tissus périphériques.

Il existe des mécanismes compensateurs comme l’augmentation du taux de 2,3DPG, ou encore celui de l’EPO (hormone) qui permet une augmentation de production de GR, ce qui a pour effet d’augmenter la masse totale de transporteurs, donc d’augmenter le taux de dioxygène dans les tissus périphériques.

* Soit on a une affinité diminuée, au niveau des poumons tout se passe normalement, seulement c’est au niveau des tissus périphériques qu’il y a un relargage trop important du dioxygène. Le sang circulant devient trop riche en désoxyHb (par rapport au sujet normal), qui se manifeste par une cyanose, avec des ongles bleutés, à peau bleue-marron.
* Les mutations affectant la surface de l’Hb n’ont aucun impact sur la fonctionnalité, et passent donc inaperçues.
* Les mutations concernant la polarité des résidus polaires chargés, ont des conséquences sur la charge de la molécule. En générale elles n’ont de grandes conséquences sur la fonctionnalité de l’Hb, à l’exception de l’HbS, qui est la cause de la drépanocytose.

1. La drépanocytose

a)*Caractéristiques moléculaires*

C’est la maladie la plus fréquente en France, notamment en région parisienne. Elle est en dépistage prénatale pour les couples à risques (méditerranéens, Asie de l’est,…) , et en région parisienne on dépiste 53% des nouveaux nés, car la population à risque est largement située dans cette région.

Cette maladie est due à une mutation ponctuelle au niveau de l’exon du gène de la β globine : en fait l’acide glutamique (acide aminé polaire chargé négativement) est remplacé par la valine (acide aminé hydrophobe). Cette substitution d’un acide aminé polaire à un acide aminé hydrophobe a des conséquences sur la forme tridimensionnelle de l’HbS sous forme désoxyHb.

En effet, lorsque l’oxygène est fixée sur l’Hb (forme oxyHb), le tétramère est dans une bonne conformation. En revanche, sous forme désoxyHbS, la valine interagit avec un acide aminé hydrophobe qui se trouve sur une autre globine βS d’une autre HbS, ce qui entraine une polymérisation des molécules d’Hb en forme de fibres. La membrane des GR se déforme, se fragilise de plus en plus. En effet les polymères de fibres s’assemblent pour former grandes fibres, ce qui fragilise la membrane du GR. Ces polymères entrainent des anomalies de la membrane, notamment la formation d’agrégats avec la protéine bande 3 (qui est membranaire). Mais également l’altération des vésicules, le fer de l’Hb qui devient ferrique en la présence d’un environnement oxydant, il y a surtout des anomalies dans le transport ionique, notamment celui du potassium par son canal ou encore par le co-transporteur K-Cl, qui entraine une déshydratation du GR, or la déshydratation qui favorise la formation des polymères (on est dans un cycle vicieux). Ces anomalies de la membrane du GR a pour conséquences la déformation de ce dernier, avec un aspect en faucille, ce qui l’empêche de pouvoir passer normalement dans les petits vaisseaux, entrainant un blocage des vaisseaux sanguins. De plus toutes ces modifications vont entrainer la fragilité du GR, qui va avoir une durée de vie de 15 jours (contre 120 jours pour un sujet sain).

*b) Physiopathologie*

Le schéma physiopathologique classique ici décrit est insuffisant pour expliquer les crises vaso-occlusives, caractéristiques spécifiques de la maladie, car le délai de polymérisation des désoxyHbS est supérieur au temps de passage des GR dans la microcirculation.

Ces crises sont responsables de très fortes douleurs ressenties par les malades, ces douleurs sont soulagées par des antalgiques, notamment la morphine qui est aujourd’hui l’antalgique le plus fort connu.

Ces douleurs sont déclenchées par :

* des facteurs de ralentissements circulatoires : l’adhérence cellulaire anormale des GR à l’endothélium
* Territoire vasculaire : les veinules post-capillaires, à petit diamètre qui favorisent l’abouchement des GR déformés adhérents
* Quels GR : Chez le sujet drépanocytaire on a une très grande hétérogénéité de GR, les réticulocytes et des GR déshydratés.

En fait ce sont les GR jeunes qui sortent de la moelle hématopoïétique prématurément, on les appelle « réticulocytes de stress » à cause du stress anémique (besoin de GR très important).en fait l’organisme accélère la production de GR pour essayer de remplacer les GR lésés.

* Mécanismes moléculaires :

Les molécules partenaires de cette sortie sont VLA-4 présents sur le GR, VCAM-1 présenté par les cellules épithéliales du capillaire, CD36 du GR et de l’épithélium avec entre les deux la thrombospontine. VCAM-1 est une molécule qui est normalement exprimée lors d’inflammation, qui permet ainsi une adhérence avec les VCAM-4. Il y a aussi des GR matures et vieillis. Les cellules endothéliales activées vont se désquamer, et entraine une exposition des structures sous endothéliales.

* Les anomalies du tonus musculaire :

Normalement le tonus musculaire est régulé par deux molécules : l’endothéline 1 qui est vasoconstricteur, et le NO qui est vasodilatateur.

L’endothélium constitue une barrière entre le sang et les structures sous-endothéliales. L’endothélium joue un rôle dans le tonus musculaire, mais également dans la thrompobongénèse, ainsi que dans le remodelling vasculaire. Il y a sécrétion d’anti-coagulants et de pro-coagulants, qui ont tous les deux des effets antagonistes, d’une part l’effet vasodilatateur et d’autre part l’effet vasoconstricteur.

Le NO est un facteur majeur de la biologie vasculaire, notamment par ses effets vasodilatateur, le NO est produit par les cellules endothéliales suite leur interaction avec les cellules musculaires lisses.

L’Hb est l’agent de destruction du NO le plus puissant. Tant que l’Hb se trouve dans le GR, il n’a pas d’action destructive sur le NO. En revanche si le GR est lésé, l’Hb est libérée directement dans le plasma où il va pouvoir agir sur le NO. Cette destruction du NO par le Hb a pour effet une perte de la propriété de vasodilatation, mais aussi a pour conséquences l’hypertension pulmonaire, des problèmes rénaux, des ulcères …

L’hémolyse a une action sur le métabolisme du NO :

* Destruction du NO par l’Hb
* L’arginase du GR détruit l’arginine, substrat de la NO synthase, ce qui pour conséquence l’inhibition de la synthèse de NO, et donc un déficit de production en NO.

La drépanocytose présente deux phénotypes distincts :

* La viscosité vaso-occlusive
* Le syndrome hémolytique avec un taux de réticulocytes, de l’Hb plasmatique, et de l’arginase trop élevé

*c) Les thérapeutiques de la drépanocytose*

Il existe deux stratégies thérapeutiques.

La première consiste à augmenter la production en NO, pour cela on administre l’hydroxynoré, seul médicament efficace à ce jour. Ce médicament a pour effet d’augmenter la production en NO, il est inhalé lors des crises de vaso-occlusion ou thoracique aigue.

La deuxième consiste à diminuer la destruction du NO, pour cela on l’anopurinol.

On peut également la réponse au NO.