Le déficit en G6PD et en Pyruvate kinase érythrocytaire : physiopathologie et diagnostic

Les déficits en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD) et en Pyruvate Kinase (PK) sont les étiologies d'hémolyse périphériques liées à des anomalies du métabolisme du globule rouge. Le déficit en G6PD a essentiellement un mode de manifestation, aiguë, liée à un stress oxydatif. Le déficit en PK a un mode d'évolution chronique et peut être comparé à une thalassémie de type intermédiaire. Le diagnostic biochimique suppose des conditions de réalisation très exigeantes pour être valide et peut être confirmé par l'analyse génétique.

■ Auteur

Serge PISSARD
MD PhD,
Laboratoire de Génétique
CHU Henri Mondor,
en charge de l'analyse moléculaire des maladies du globule rouge et du fer.

Expertise :
Thalassémie , hémoglobinoses et dysérythropoïèses. Surcharges martiales génétiques. Membre de la SFH et du club du Globule Rouge et du Fer (CGRF) (membre du bureau).

Déclaration publique d'intérêts :
Aucun.

Correspondance :
Laboratoire de génétique
Hôpital Henri Mondor
51 avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny
94010 Créteil
serge.pissard@inserm.fr

Physiopathologie

La glycolyse anaérobie et les métabolismes qui lui sont rattachés assurent deux fonctions essentielles à la survie du globule rouge (GR) : lutte contre l'oxydation grâce à la production de NADPH2 par la Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD), permettant le contrôle des oxydations qui sont très importantes du fait de la richesse en O2 et en fer du GR et production par la Pyruvate Kinase (PK) de l'ATP nécessaire à cette cellule très active (fluidité membranaire, canaux ioniques...) (**figure 1**). Les mutants de ses deux enzymes sont donc des étiologies d'un vieillissement prématuré du GR et donc d'hémolyse. Le dosage enzymatique est un élément clé du diagnostic qui doit être interprété avec précaution. En effet, la stabilité intrinsèque des enzymes peut être faible et sensible à de mauvaises conditions d'acheminement, de conservation et de traitement des prélèvements. D'autre part, l'existence d'un vieillissement cellulaire accéléré majore artificiellement le résultat du dosage et peut masquer un déficit. Il est donc indispensable de rester très critique face aux résultats du dosage, de refuser d'interpréter le dosage isolé d'une seule enzyme (la deuxième enzyme, au mieux non liée à l « X », l hexokinase par exemple, permettra de « normaliser » les activités mesurées) et de ne pas hésiter à faire un dosage de contrôle.

Déficit en Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G6PD)

Classification

L'enzyme active est un dimère d'une protéine codée sur le chromosome X (Xq 28) Ce sont donc essentiellement les garçons qui expriment la maladie qui est transmise essentiellement par les filles. L'OMS a mis en place une classification des variants G6PD basée sur la valeur de l'activité par rapport à la normale. Les protéines déficitaires appartiennent aux classes III (60 à 10 % de l'activité normale), II (activité inférieure à 10 % de la normale) et I (activité inférieure à 1 %). Les types IV, variants à activité normale, et le type V qui correspondent à une enzyme suractivée, n'ont pas de signification en pathologie.

Diagnostic clinique

Les protéines type II ou III déterminent des accidents aigus avec 2 tableaux cliniques majoritaires : l'ictère néonatal et l'hémolyse aiguë secondaire à la prise d'un oxydant ou encore contemporaine d'un épisode fébrile. La survenue de l'hémolyse après exposition à un agent oxydant est aléatoire et ils peuvent être très brutaux avec une anémie inférieure à 5 g d'Hb/dl et les signes cliniques liés à une libération massive d'Hb dans la circulation : douleurs abdominales ou lombaires, urines « porto », hémoglobinurie. Elle peut se compliquer chez l'adulte d'une insuffisance rénale aiguë. L'hémolyse survient dans les 1-3 jours suivant la prise de l'agent oxydant. Les déficits de type III sont rarement impliqués dans ces tableaux mais cela reste possible ce qui rend préférables les même mesures d'éviction préventive des composés oxydants : sulfamethoxazole, triméthoprime, sulfadiazine, dapsone, sulfaguanidine, sulfafurazol, nitrofurantoine, primaquine, bleu de méthylène iv, noramidopyrine/metamizole sodique, sulfasalazine, rasburicase. Le déficit en G6PD est une cause fréquente d'ictère néonatal ou à partir du 3e jour de vie. En l'absence de prise en charge il peut se compliquer d'ictère nucléaire, complication gravissime et rare mais dont il est une des causes principales. L'hyperbilirubinémie peut être majorée par un syndrome de Gilbert associé.

Diagnostic biologique

La présence de corps de Heinz recherchés sur le frottis par la coloration au bleu de crésyl ou au violet de méthyl, la présence d'hématies fantômes ou encore d'hématies mordues ou pincées sont évocatrices. Le dosage enzymatique permet le diagnostic avec les précautions d'usage déjà détaillées. Le diagnostic moléculaire est utile en cas de transfusion sanguine (TF) empêchant le dosage enzymatique, dans les déficits de type III (fréquent en Afrique, chez les enfants drépanocytaires qui sont en règle réticulocytaires) et pour dépister les femmes porteuses.

Déficit en G6PD de type I

À l'opposé des type III et II, les déficits de classe I (activité < 1 % de la normale) entraînent une « anémie chronique corpusculaire non sphérocytaire » présente dès la naissance. L'enzyme y est quasiment inactive soit parce qu'il ne peut y avoir de « dimérisation », soit parce que la mutation altère de manière forte le site actif de la protéine. Le type I est rare avec quelques dizaines de mutants décrits, souvent privés. Les mères des garçons porteurs d'un déficit de type I sont porteuses hétérozygotes du mutant mais ont une activité G6PD normale car les GR exprimant le « X muté » sont détruits avant de passer dans la circulation sanguine. Dans les déficits de type I, l'anémie hémolytique chronique s'accompagne des complications habituelles des hémolyses chroniques

Retrouvez cet article sur notre application *Horizons Hémato* et sur le site www.intercomsante.com

Mots clés

Ictère néonatal, favisme, hémolyse chronique.

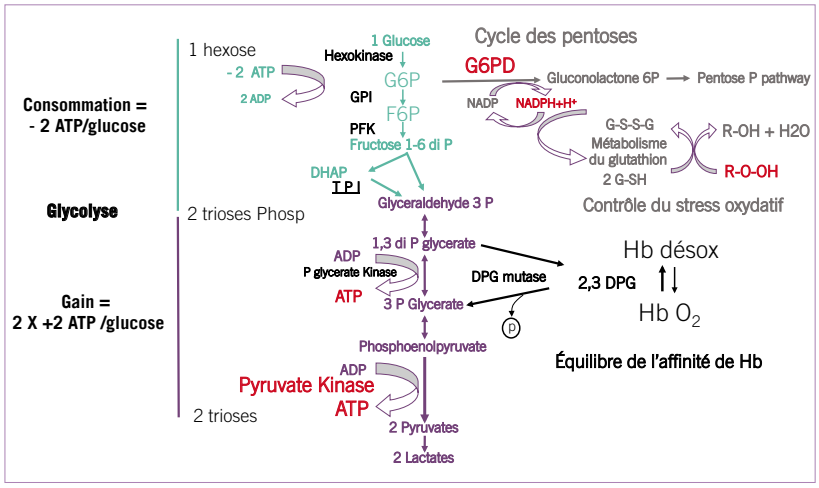

Figure 1 : Métabolisme énergétique et anti-oxydatif du GR.

(splénomégalie, lithiases biliaires, érythroblastopénie liée au parvovirus B19) et s'associe à des poussées d'hémolyse aiguë intravasculaire lors d'épisodes fébriles. L'anémie peut être sévère, nécessiter des transfusions (TF) itératives et se compliquer d'une surcharge en fer. Un diagnostic anténatal peut être proposé en cas de risque de déficit de type I dépendant des TFs.

Déficit en Pyruvate kinase (PK)

Épidémiologie et génétique

Il existe plusieurs protéines à activité PK avec des expressions tissues spécifiques. La protéine active dans les GR matures et impliquée dans les anémies chroniques est codée sur le chromosome 1, en 1q21 (PK-LR). L'enzyme est active après tétramérisation et elle est soumise à une régulation de type allostérique (fructose 1-6 d P : activateur et ATP : répresseur). C'est une affection à transmission autosomique récessive, les porteurs hétérozygotes étant indemnes de toute anomalie mis à part une diminution de l'activité mesurée, dans des proportions très variable en fonction de la mutation en cause. Dans 80 % des cas, on retrouve au moins un mutant « privé » (plus de 200 mutations décrites) et les anomalies touchent les domaines clés de la protéine tels que le site catalytique ou le site impliqué dans la régulation allostérique de l'activité.

Diagnostic clinique

Le tableau clinique commun présenté par les patients déficitaires en PK est celui d'une anémie hémolytique chronique associant ictère et splénomégalie. Le degré d'anémie est extrêmement variable allant de l'anémie néonatale sévère dépendant des TF (des cas d'hydrops ont été décrits) à l'hémolyse totalement compensée diagnostiquée à l'âge adulte. Le plus souvent la révélation est précoce car la sévérité de cette pathologie est maximale dans la petite enfance et le diagnostic le plus souvent posé au cours des 2 premières années de vie. Le déficit en PK a 2 conséquences : la baisse de production d'ATP et du fait de la présence d'un bloc enzymatique, une accumulation des métabolites d'amont, en particulier du 2-3 DPG qui diminue l'affinité de Hb A1 favorisant le transfert d'oxygène en périphérie. Cette compensation qui se produit avec l'Hb A1, ne peut pas avoir lieu chez le nouveau-né car l'Hb fœtale, qui est encore majoritaire, est insensible au 2-3 DPG expliquant la sévérité en période néonatale. Par la suite, environ 50 % des enfants non splénectomisés auront toujours besoin d'un support transfusionnel ponctuel ou continu. La surcharge en fer est à rechercher en cas de TF itératives mais également en l'absence de TF (mécanisme d'hyperabsorption digestive du fer) et c'est d'ailleurs une des modalités de découverte de la maladie. Des tumeurs hématopoïétiques ont été rapportées et soulignent le versant dysérythropoïétique de l'anémie.

Diagnostic biologique

Le diagnostic repose sur le dosage enzymatique qui doit être fait dans les mêmes conditions et avec les mêmes précautions que pour le dosage de l'activité G6PD, en particulier le dosage d'une activité supplémentaire « normalisatrice ». L'instabilité de l'érythropoïèse des nouveau-nés rend difficile une bonne évaluation biochimique du fait de l'absence de normes enzymologiques pour les différents âges et de la quasi-impossibilité de faire un contrôle valide du fait de l'évolution rapide de l'érythropoïèse chez les nouveaux-nés. Il est préférable d'étudier les parents qui ont des valeurs stables. Les conséquences des mutations de la protéine pourront concerner la stabilité de la protéine, le fonctionnement des sites catalytiques ou la transition allostérique qu'il est très difficile d'évaluer en pratique. Ceci peut expliquer la discordance souvent observée entre la sévérité de l'anémie et la faible diminution de l'activité enzymatique dosée ou l'apparente normalité des dosages effectués chez des parents de patients déficitaires. Le diagnostic moléculaire est important, pour assurer le diagnostic et permettre de proposer un diagnostic prénatal, si le cas index a une évolution nécessitant un programme transfusionnel au long cours.

■ Ce qu'il faut retenir

- Les anomalies du métabolisme du GR sont la source de vieillissement prématuré des GR aboutissant à des hémolyses périphériques aiguës : déficit en G6PD ou chronique : déficit en PK (et toutes les autres enzymes).
- Le diagnostic biochimique est fondé sur la mise en évidence d'un décalage entre la valeur moyenne de l'enzyme testée et d'une enzyme témoin supposée normale. Il faut refuser les dosages d'une activité isolément.
- La présentation clinique du déficit en G6PD est influencée par le lien au chromosome X. En effet, des anomalies de « Lyonisation » peuvent masquer le déficit chez la femme porteuse et ce d'autant plus que le déficit est sévère (100 % dans les déficits de classe I).
- Le déficit en PK est le plus souvent diagnostiqué en période néonatale. L'évaluation biochimique doit se faire aussi chez les parents car les valeurs normales du nouveau-né sont peu stables.

■ Références

1. **Wajcman H**. *Déficits en glucose-6-phosphate déshydrogénase. EMC - Hématologie 2013;0(0):1-11 [Article 13-006-D-10].*
2. **Wajcman H**. *Anémies hémolytiques dues à des déficits en enzymes érythrocytaires autres que la G6PD. EMC (Elsevier SAS, Paris), Hématologie, 13-006-D-11, 2006 (version actualisée sous presse).*
3. **Cappellini MD, Fiorelli G**. *Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Lancet 2008; 371: 64–74.*
4. **Zanella A, Fermo E, Bianchi P et al**. *Pyruvate kinase deficiency: the genotype-phenotype association. Blood Rev. Blood Reviews (2007) 21, 217–231.*
5. **Zanella A, Bianchi P, Fermo E et al**. *Hereditary pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency: from genetics to clinical manifestations. British Journal of Haematology, 2006, 133, 113–123.*

Épidémiologie des déficits en G6PD et pyruvate kinase et autres enzymopathies de la glycolyse

Déficit en G6PD

Plus de 400 millions de sujets sont porteurs d'un déficit en G6PD dans le monde. Cette diffusion des mutations est liée à une sélection positive car elles confèrent une « protection » vis-à-vis de l'infection palustre, le niveau « pro-oxydant » supérieur à la normale des GR déficitaires étant défavorable au développement du parasite. Sa répartition autour de la planète est donc superposable aux thalassémies. Il existe deux formes normales de l'enzyme, la protéine « sauvage » dite « B » et un variant dit « A », plus fréquent en Afrique qui est lié à la présence d'un polymorphisme protéique neutre : p.Asp126Asn (G6PD:c.376 A→G, exon 5). Sur ces deux protéines d'activité identique, sont apparues diverses mutations produisant des protéines à activité plus ou moins réduite déterminant dans la classification OMS, les déficits en G6PD de type III, II et I.
En Afrique, l'apparition du mutant p.Val68Met (G6PD :c.202 G→A, exon 4) sur le variant « A » détermine une protéine instable dont la fréquence peut atteindre jusqu'à 30 % de porteurs dans certaines régions. Elle est dite forme « A- » : p. (Val68 Met, Asp126Asn).
Dans le bassin méditerranéen, c'est la forme « B » qui porte la mutation la plus répandue : p.Ser188Phe (G6PD :c.563C>T), dite forme « B- » ou « Med ». L'instabilité du mutant « B- » est plus sévère que le « A-» et cause le « favisme », accident hémolytique aigu secondaire à la consommation de fèves qui contiennent un agent oxydant puissant : la vicine. Le déficit « A-» est donc moins sévère, dit de « type III », (60 à 10 % de l'activité normale) dans la classification « OMS » des déficits en G6PD, alors que la forme « B-» est dite de « type II » (< à 10 % de l'activité normale). Plus de 150 mutants des protéines natives « B » et « A » ont été recensés produisant des protéines à activité réduite de type II ou III et déterminant des anémies aiguës secondaires à l'exposition à un agent oxydant, médicamenteux, alimentaire (fèves) ou même cosmétique (henné). Il existe des spécificités géographique (G6PD Canton et Kaiping en Chine, Viangchan dans le Sud-Est asiatique).

Deficit en PK

Contrairement au déficit en G6PD, il s'agit d'une maladie rare de répartition planétaire avec apparemment, une plus grande fréquence en Europe. Il existe quelques mutations récurrentes avec une distribution géographique particulières : p.Arg510Gln (PKLR :c.1529 G>A), p.Arg486Trp (PKLR :c.1456 C>T) et p. Glu241Stop (PKLR :c.721 G>T). Les deux premières sont situées à proximité du site catalytique et sont répandues dans le nord de l'Europe pour la première et dans le sud de l'Europe pour la seconde. La mutation p.Arg510Gln est fréquente chez les patients sévères alors que les mutants de l'Arginine 486 sont plus fréquents dans les formes modérées.

Autres déficits de la glycolyse anaérobie impliqués dans des hémolyses chroniques

Les déficits des autres enzymes impliquées dans les voies métaboliques dont il a été question sont rares, voire rarissimes. Quatre déterminent des syndromes mixtes, hématologiques et neuro/musculaires. Le diagnostic repose sur la réalisation d'un bilan enzymatique « élargi » comportant G6PD, PK, Hexokinase (déficit exceptionnel) et phosphoglucose isomérase (GPI) avec 5'nucléotidase et triose phosphate isomérase (TPI) chez un enfant surtout si un tableau neurologique sévère apparaît secondairement ou la phosphofructose kinase (PFK) et la phosphoglycérate kinase (PGK) en cas de tableau neuromusculaire associé.
Le déficit en GPI est le « plus fréquent des déficits rarissimes » et est responsable d'anémies hémolytiques chroniques récessives de sévérité variable et quelques centaines de cas ont été décrits. Des troubles neurologiques sont parfois présents.
Le déficit en TPI est une entité rare, responsable d'une anémie hémolytique chronique précoce qui peut être sévère en période néonatale. Elle s'accompagne constamment d'un tableau neurologique progressif débutant entre 6 et 30 mois, aboutissant à une régression du nourrisson puis à son décès avant 5 ans. La gravité de l'affection est « extrahématologique » et un DPN est toujours proposé compte tenu de l'évolution et du pronostic létal.

Tableau 1 : Manifestations et transmission du Déficit en G6PD.

Déficit en G6PD de type II et III			
	♂ porteur	♀ hez	♀ hoz
Est…	« Malade »	Normale	« Malade »
Dosage	Déficitaire variable	Variable (lyonisation…)	Déficitaire variable
Transmet à	Toutes ses filles	1/2 de ses fils 1/2 de ses filles	Tous ses fils Toutes ses filles

Déficit en G6PD de type I			
	♂ porteur	♀ hez	♀ hoz
Est…	« Malade »	Normale	« Malade »
Dosage	Déficitaire proche de « 0 »	Normal	Déficitaire proche de « 0 »
Transmet à	Toutes ses filles	1/2 de ses fils 1/2 de ses filles	Tous ses fils Toutes ses filles