

Revue scientifique
Faculté de Médecine de Nouakchott
Mauritanie

MAURITANIE MÉDICALE

Article Original

Identification de la mutation IVS1-2 (T>G) responsable de beta thalassémie majeure chez une famille Mauritanienne.

Identification of an IVS1-2 (T>G) mutation causing major beta thalassemia in a Mauritanian family.

Auteurs :
Fatimetou Veten[1], Sidi Mohamed ould Ghaber[2], Mohamed Lemine Ould Salem[2], Oukht El benin Zein[3], Ahmedou Tolba[3], Ahmedou Houmeida[1].

Auteur correspondant : Fatimetou Veten
(UNA), Nouakchott, Mauritanie.
PO box 5096 Tel 00 222 22303275.
Adresse E-mail : fatouveten@hotmail.com
fatouveten7@gmail.com

Affiliation des auteurs :

[1] Unité de Recherche sur les Biomarqueurs dans la Population Mauritanienne – FST. Université de Nouakchott Al-Assriya, Nouakchott, Mauritanie.
[2] Service Laboratoire, Centre Hospitalier National, Nouakchott, Mauritanie.
[3] Centre National d'Oncologie. Nouakchott. Mauritanie

Article Info

Soumis : le 22/07/2020
Accepté : le 02/09/2020

Résumé

Introduction:

Les beta-thalassémies constituent, après la drépanocytose, les anomalies de l'hémoglobine les plus rencontrées en Mauritanie avec une prévalence globale d'environ 2%. Les tableaux cliniques de ces maladies sont très variés en fonction du degré du déficit de synthèse de la chaine beta. Les formes majeures (BTM) aussi connues sous le nom d'anémies de Cooley sont causées par deux mutations desgenes β au niveau du chromosome 11 (β°/ β°).

Patients et Méthodes :

Le proband (patient principal) est un garçon de 9 ans présentant une anémie sévère mal tolérée associée à des signes d'hémolyse chronique (ictère + splénomégalie). La mutation génétique a été recherchée par séquençage direct de l'ADN du patient et ses parents. La recherche des haplotypes associés à cette mutation beta-thalassémique a été réalisée par la technique PCR-RFLP.

Résultats:

La mutation IVS1-2 (T >G) a été identifiée à l'état hétérozygote chez les parents alors qu'elle a été observée à l'état homozygote chez le patient confirmant la présence d'une beta thalassémie. L'haplotype IX a aussi été identifié, dans le même état génotypique que la mutation, chez ce patient et ses parents.

Conclusion :

Ce résultat montre l'importante d'une caractérisation génétique des mutations associées aux béta thalassémies pour une meilleure prise en charge des patients et éventuellement un conseil génétique approprié.

Article original

Mots clés : β-Thalassémie • mutation • Mauritanie • population.

Abstract

Introduction :

After sickle cell anemia, Beta-thalassemia are the most common hemoglobin disorders in Mauritania with an overall prevalence of around 2%.

Patients and methods :

Proband is a 9-year-old boy with severe, poorly tolerated anemia associated with signs of hemolysis (jaundice, splenomegaly). The genetic mutation was sought by direct sequencing of the DNA of the patient and his parents. The search for haplotypes associated with this beta-thalassemic mutation was carried out by the PCR / RFLP technique.

Results :

Using Sanger direct sequencing, we identified an IVS1-2 (T >G (T> G) substitution at codon 1 of the beta hemoglobin gene in 3 individuals from a Mauritanian family. The mutation was heterozygous in the normal parents and present in homozygous state in the proband who carried clinical signs and hematological parameters consistent with beta thalassemia major.

Conclusion :

This result can be used as part of an early haemoglobinopathies diagnosis program for better patient care and appropriate genetic counseling. Our results also confirm the multiethnic character of the Mauritanian population.

Mots clés : β-Thalassmia • mutation • Mauritania • population.

Introduction :

Les manifestations cliniques des β-thalassémies (défaut de synthèse de chaine beta globine de l'-hémoglobine) sont très variables. Elles vont des cas asymptomatiques (formes silencieuses) à des formes sévères avec une anémie transfusion dépendante.

Bien que les défauts moléculaires à l'origine des β-thalassémies soit d'une extrême diversité, chaque population se caractérise par un groupe de 4 à 5 mutations qui lui est spécifique[1].

Par exemple, dans les populations d'Afrique du Nord, la mutation non-sens du codon 39 C/T et celle du IVSI-110G/A étaient la cause la plus fréquente de β-thalassémies [2, 3]. Dans les populations d'Afrique subsaharienne, une substitution (A> G) en position -29 dans la zone Tata et IVS2-849 ont été rapportée respectivement chez des patients africains noirs β + et β0 américains [4, 5]. Comme pour la drépanocytose, le niveau d'anémie dans la bêta-thalassémie a également été influencé par le type de variation spécifique de la séquence d'ADN (haplotype) associée à la mutation causale particulière [6].

l'objectif de ce travail était de caractériser la mutation génétique responsable d'un cas de beta thalassémie majeure diagnostiquée chez certains membres d'une famille mauritanienne.

Patients et Méthodes :

Le proband est un garçon de 9 ans né d'un mariage consanguin (**fig.1**) présentant une anémie sévère mal tolérée associée à des signes d'hémolyse chronique (ictère + splénomégalie). L'analyse hématologique a montré une anémie hypochrome microcytaire à 5g/dl. L'évolution a été marquée par le décès du patient et sa sœur par la même cause. Les fractions d'hémoglobines ont été quantifiées par l'électrophorèse capillaire (Minicap Flex-Piercing, N92477, SEBIA, France).

L'ADN génomique du proband et ses parents a été extrait par un système automatisé (système d'extraction Arrow NA). Le dépistage préliminaire du codon 39 et de la mutation IVS1-110 a été réalisé par la technique ARMS [7]. La recherche détaillée de

mutation dans le locus a été ensuite effectuée par séquençage direct des produits de PCR réalisé sur un analyseur génétique capillaire 3130 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). L'haplotype associé à la mutation β-thalassémique particulière a été caractérisé sur la base du cluster de sites de restriction polymorphes affiché après PCR-RFLP en utilisant cinq enzymes de clivage spécifique pour sept sites de restriction Hinc II 5' to ε, Hind III 5' to Gγ, Hind III in the IVS-II 5' to Aγ, HincII in pseudo β, Hinc II 3' to pseudo β, Ava II in β, and Hinf I 3' to β (**figure 1**) [8]. La recherche du polymorphisme XmnI du promoteur G-globine -158 (C> T) a également été effectué par PCR suivie d'une digestion par l'enzyme de restriction XmnI.

Résultats :

Paramètres hématologiques et biochimiques

L'étude des paramètres hématologiques a montré que chez les parents porteurs du trait beta thalassémie, il existe une anémie modérée hypochrome et microcytaire, associée à une polyglobulie (tableau 1). Le proband, porteur d'une β-thalassémies majeure, a manifesté une anémie microcytaire sévère avec nécessité de transfusions sanguines régulières accompagnées d'un traitement chélateur

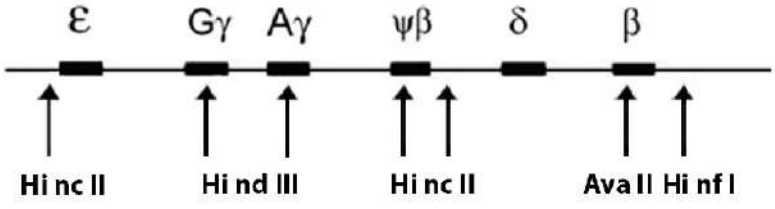


Figure 1: Localisation de polymorphismes des haplotypes thalassémiques sur le locus beta.

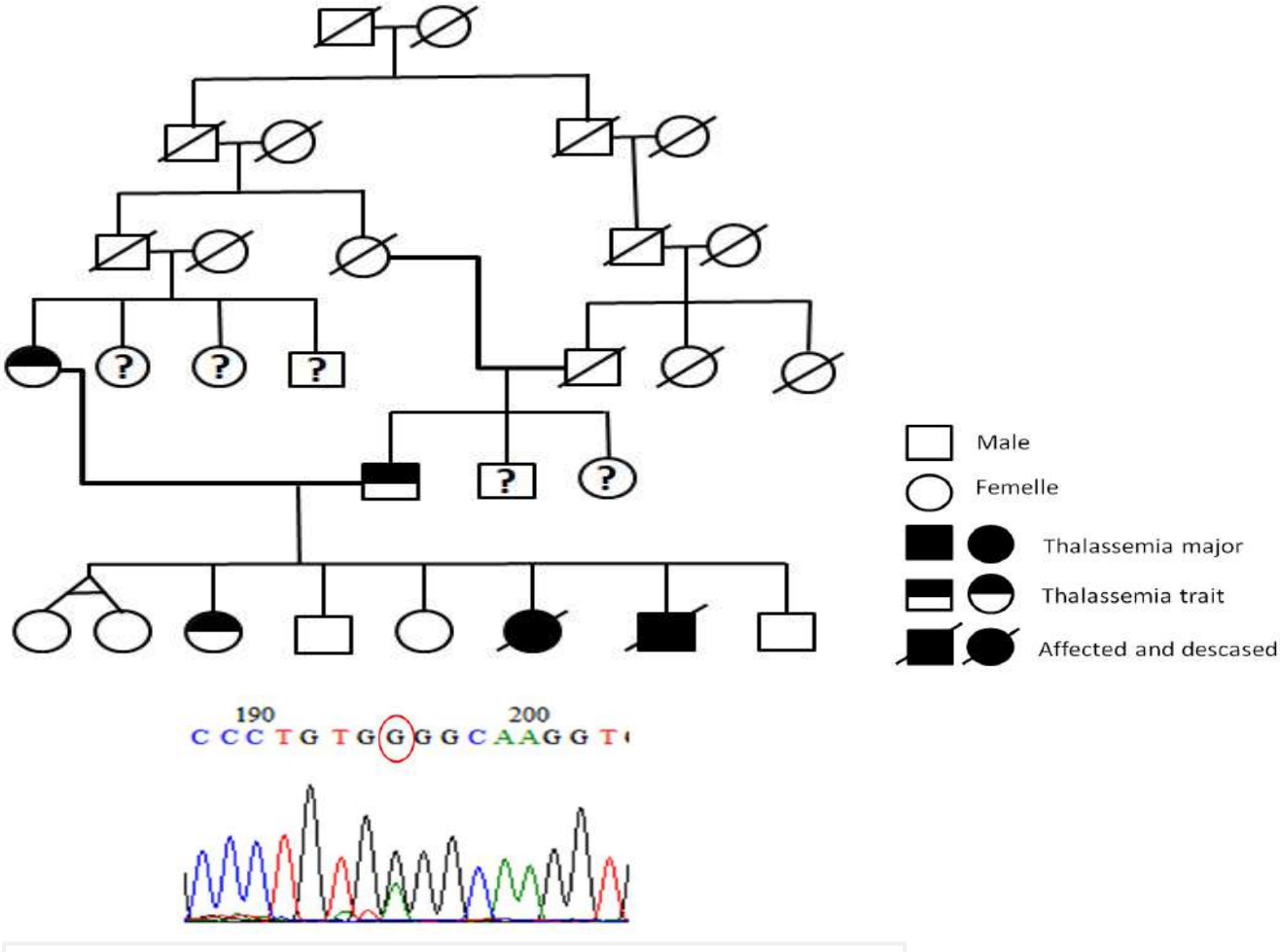


Figure 2 : Pédigrée de la famille et analyse de séquence montrant la mutation.

du fer. Chez ce patient une splénectomie a été nécessaire.

Chez les parents hétérozygotes (porteur d'une β-thalassémie mineure) l'hémoglobine A2 était élevée avec respectivement un taux de 5,9 et 6, 3%. Chez le probantd, ce taux de HbA2 était normal alors que l'-hémoglobine HbA1 était absente. HbF était majoritaire (98%).

Identification de mutationethaplotype thalassémique

Au cours de cette étude, notre stratégie était de chercherpar la technique ARMS la présence des deux mutations prédominantes dans la région maghrébine : au niveau du codon 39 et IVSI-110. Les résultats de cette approche ont montré l'absence de ces deux mutations chez cette famille.

Le séquençage direct de l'ADN des individus thalassémiques étudiés a permis d'identifier la mutation en cause. Il s'agit d'une substitution (T >G) au niveau du deuxième nucléotide de l'IVS1. La mutation IVS1-2 (T >G) a été trouvée chez les 3 individus de cette famille : à l'état hétérozygote chez les parents et à l'état homozygote chez le proband.

Dans cette étude, le polymorphisme de XmnI ainsi que l'hapotype IX ont été identifié dans le même état génotypique que la mutation, chez le patient et ses parents (Tableau 1).

Discussion :

Dans un travail précédent, nous avons montré que les anomalies de l'hémoglobine ont une prévalence globale d'environ 9 % avec une prépondérance respectivement de la drépanocytose (6%) et les beta-thalassémies (2%) [9], ici nous avons identifié une substitution (T >G) du deuxième nucléotide de l'intron 1 du gène béta globine (IVS1-2, T >G). Cette mutation n'induit pas d'incidence pathologique chez les deux parents et un frère du patient chez les-

Tableau I : Paramètres hématologiques et biochimiques de la famille du patient GLM.

Patient	HbF (%)	HbA2 (%)	GR	Hb	VGM	TCMH	Génotype	Haplotype	XmnI
Proband (GLM)	98	2	2,41	5	60,9	20,7	IVS1-2 (T >G)/ IVS1-2 (T >G)	IX/ IX	+/+
Père	93,7	6,3	5,76	9,9	57,1	17,2	IVS1-2 (T >G)/N	IX/N	+/-
Mère	94,1	5,9	6,60	11,8	59,8	18	IVS1-2 (T >G)/N	IX/N	+/-

quelles la variation génétique est à l'état hétérozygote. Par contre, chez le proband lui-même où la mutation a concerné les deux allèles du même locus (homozygote), les paramètres cliniques et hématologiques notamment l'absence d'hémoglobine normale de l'adulte HbA et la présence d'une d'hémoglobine fœtale HbF l'état majoritaire (98%), supportent clairement une beta-thalassémie majeure. Cette ségrégation est aussi indicative d'une transmission autosomique récessive de la mutation identifiée. La famille où cette mutation a été rencontrée est d'origine Maure de la région de l'Inchiri (nord de la Mauritanie). Bien que rare quant à sa distribution mondiale, (IVS1-2, T>G) a été rapportée dans d'autre populations maghrébines, en particulier en Tunisie [10 et 11] et au Maroc [12]. Nous avons déjà rapporté cette ressemblance génétique entre le groupe maure de notre population et les populations d'Afrique du nord dans l'étude de la distribution ethnique d'autres bloqueurs comme les groupes sanguins ABO, Rhésus [13], et le complexe d'histocompatibilité HLA [14], dans notre population.

D'autre part, cette mutation est la seule parmi d'autres mutations rencontrées dans les populations magrébines comme le codon non-sens 39 (A> T) et la mutation IVSI-110 à être identifiée dans notre population. Elle n'a pas été rapportée chez les populations subsahariennes qui ont aussi des similarités génétiques avec notre population. Ces observations supporteraient une spécificité ethnique de cette mutation dans le groupe maure qui devrait être confirmée. Une étude étendue de la distribution géographique et ethnique des différentes mutations liées aux béta thalassémies que nous avons déjà identifiée est donc nécessaire. Cette présence limitée à un groupe éthnique ou géographique a été observée pour beaucoup d'autres mutations béta thalamiques dans le monde (tableau II).

Contrairement aux alphathalassémies causées souvent par des délétions de séquence en block dans le gène alpha, les mutations beta thalassémiques sont souvent caractérisées par des variations nucléotidiques limitées, sous formes de substitution, dans le gène beta ou dans les régions flaquant ce gène. Ces mutations dites non déletionnelles détermineraient non seulement le degré de sévérité de la maladie en fonction du type d'allèle introduit (β0, β+, β + +, β + + +), mais aussi le mode de transmission héréditaire de cette mutation. Cette hétérogénéité génétique est responsable de la multiplicité des cas observés. La mutation que nous avons identifiée dans cette famille est une substitution d'une seule base de l'intron 1 rentre donc dans ce type de modification génétique restreinte du gêne béta.

Tableau II : Distribution ethniques de quelques mutations thalassémiques

Mutation	Type	Distribution ethnique
mutations transrationnelles		
-31 (A→C)	β+	Italie
-73 (A→T)	β++	Chine
-30 (T→A)	β+	Méditerranéen
RNA processing		
IVS1-2 (T → C)	β 0	Noires Américains
IVS1-2 (T → C)	β 0	Maghrébin
IVS1-110 (G → A)		Méditerranéen
IVS1-5 (G → T)	β+	N européen
IVS1-130 (G → A)	β 0	Egyptien
RNA translation		
Codon initial ATG → ATT	β 0	Iran
CD61 AAG → TAG	β 0	Noires (mauritanien)
CD39 CAG → TAG	β 0	Méditerranéen

Cette mutation est aussi définie comme une mutation rare et sa présence dans notre population concorderait avec une spécificité de distribution qui pourrait suggérer, bien que identifiée chez une seule famille, une particularité ethnique telles que la prédominance des mutations du codon 39 (A> T) et du IVSI-110 chez les nord africains [2, 3] et les mutations du TATA BOX chez les populations subsahariennes [4, 5].

Conclusion :

Cette étude a révélé la présence d'une substitution (T >G) au niveau du codon 1 du gène béta de l'-hémoglobine chez 3 individus d'une famille Mauritanienne. Elle est présente à l'état hétérozygote chez les parents normaux et à l'état homozygote chez le probant porteur des signes cliniques et paramètres hématologiques concordant avec une beta thalassémie majeure.

Une recherche de cette mutation chez un plus grand nombre de patients serait utile avant son utilisation dans le cadre d'un programme de diagnostic précoce pour une meilleure prise en charge des patients et éventuellement un conseil génétique approprié.

Références

[1] Hardison RC, Chui DH, Riemer C, Giardine B, Lehväslaiho H, Wajcman H, Miller W. Databases of human hemoglobin variants and other resources at the globin gene server.Hemoglobin. 2001; 25(2):183-93.

[2] - Jouini L, Sahli CA, Laaouini N, Ouali F, Ben Youssef I, et al., Association between clinical expression and molecular heterogeneity in β-thalassemia Tunisian patients.MolBiolRep. 2013; 40(11):6205-12.

[3] - Agouti I, Badens C, Abouyoub A, Levy N, Bennani M. Molecular basis of beta-thalassemia in Morocco: possible origins of the molecular heterogeneity.Genet Test. 2008; 12(4):563-8.

[4] - Thein SL. The molecular basis of β-thalassemia.Cold Spring HarbPerspect Med. 2013; 3(5):a011700.

[5]- Antonarakis SE, Irkin SH, Cheng TC, Scott AF, Sexton JP, Trusko SP, CharacheS, Kazazian HH Jr. beta-Thalassemia in American Blacks: novel mutations in the "TATA" box and an acceptor splice site. Proc NatlAcadSci U S A. 1984; 81(4):11548

[6]- Wajcman H, Riou J. Globin chain analysis: an important tool in phenotype study of hemoglobin disorders. ClinBiochem. 2009; 42(18):1802-6.

[7]- Old J, Henderson S. Molecular diagnostics for haemoglobinopathies. Expert Opin Med Diagn. 2010; 4(3):225-40.

[8]- Antonarakis SE, Kazazian HH Jr, OrkinSH..DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters.-Hum Genet. 1985; 69(1):1-14. Review.

[9]- Veten FM, Abdelhamid IO, Meiloud GM, Ghaber SM, Salem ML, Abbes S, Houmeida AO. Hb S [β6(A3)Glu→Val, GAG>GTG] and β-globin gene cluster haplotype distribution in Mauritania.Hemoglobin. 2012; 36(4): 311-5.

[10]- Fattoum S. Hemoglobinopathies in Tunisia. An updated review of the epidemiologic and molecular data].Tunis Med. 2006; 84(11):687-96.

[11]- Chibani, J., Vidaud, M., Duquesnoy, P. et al. The peculiar spectrum of β-thalassemia genes in Tunisia. Hum Genet 78, 190–192 (1988).

[12]- Agouti I, Badens C, Abouyoub A, Khattab M, Sayah F, Barakat A, Bennani M. Genotypic correlation between six common βthalassemia mutations and the Xmn I polymorphism in the Moroccan population.; Hemoglobin2007; 31: 141-9.

[13]- Hamed CT, Bollahi MA, Abdelhamid I, Med Mahmoud MA, Ba B, Ghaber S, Habti N, Houmeida A. Frequencies and ethnic distribution of ABO and Rh(D) blood groups in Mauritania: results of first nationwide study.Int J Immunogenet. 2012; 39(2):151-4.

[14]- Hamed CT, Meiloud G, Veten F, etal.HLA class I (-A, -B, -C) and class II (-DR, -DQ) polymorphism in the Mauritanian population.BMC Med Genet. 2018;19(1):2. Published 2018 Jan 3. doi:10.1186/s12881-017-0514-4