



Université Catholique de Lille

Consultations Adultes Hématologie

Du fer, des petits globules et des surprises

Christian Rose
Hôpital Saint Vincent de Paul
Lille

Patricia
Aguilar Martinez



Martine
Fournier



Yves Deugnier



Case1

Présentation clinique

Femme de 47 ans , venue en consultation pour pâleur et asthénie et anémie

Le mot du médecin traitant ne vous en dit pas plus en dehors du fait qu'il vous l'adresse pour anémie microcytaire

Vous disposez uniquement d'un hémogramme de ville qui est le suivant

Mme B Sylvie 47 ans, 3 enfants

Hémogramme systématique pour asthénie

<u>Hématies</u>	3,9.10 ¹² /l	<u>Leucocytes</u>	8,0.10 ⁹ /l
Hémoglobine	9,6 g/dl	PN neutrophiles	5,0 (34%)
Hématocrite	32,5%	PN éosinophiles	0,2 (1%)
VGM	72 fl	PN basophiles	0,0 (0%)
TGMH	21 pg	Lymphocytes	2,7 (56%)
CGMH	28 g/dl	Monocytes	0,1 (1%)

what else ?

Interrogatoire examen

Plaquettes : 455.10⁹/l

CAT pratique devant Anémie microcytaire

1. Historique : hémogramme antérieur

2. évolution VGM+++++++,

3. ethnie

*4. Profondeur de la microcytose et de l'anémie
et leur corrélation , le nombre de globule rouge*

3. Anomalies cytologiques : hématies cibles, ponctuées, anisocytose ?

1. Bilan biologique débrouillage (par étape)

Ferritine, CRP, fibrinogène

Diagnostic biologique

Ferritinémie : 3 µg/l (normale : 15 à 250 µg/l)

CRP négative, fibrinogène 2,5g/l

Anémies par carence martiale

- **Hémogramme (critères diagnostiques):**
 - Anémie 3 à 10g/dl, microcytaire **50 – 80**
 - hypochrome **26 – 30**
- parallélisme entre importance de l'anémie, de la microcytose et de l'hypochromie, annulocytes*, poïkilocytose
- – thrombocytose, discrète neutropénie et thrombopénie si carence sévère

– **examens biologiques** :

- **Ferritine sérique** ↓
- Sidérémie ou fer sérique ↓
- Coefficient de saturation de la siderophilline ↓
- Capacité totale de fixation de la Tf ou Tf ↑
- Siderophilline =transferrine augmentée ↑

Case 2

Présentation clinique

63 ans

Hypertendue de longue date

Polyarthrite inflammatoire mal définie PR?

**Bilan biologique effectué devant une infection
pulmonaire**

63 ans

• Globules Blancs	<i>13 400</i>	<i>4000-10000/mm³</i>
• Globules rouges	<i>3.9</i>	<i>4.5-6millions/mm³</i>
• Hémoglobine	<i>9.9</i>	<i>12.5-17g/dl</i>
• Hématocrite	<i>32</i>	<i>40-54%</i>
– Volume Globulaire M	<i>84</i>	<i>85-100 microcubes</i>
– Teneur Glob Moy Hb	<i>24</i>	<i>27-32pg/l</i>
– Concentration Glob Hb	<i>31</i>	<i>32-36%</i>
• Plaquettes	<i>497 00</i>	<i>150000 400000/mm³</i>

63 ans

- **FORMULE
LEUCOCYTAIRE**

1. Polynucléaires neutrophiles	<i>10 700</i>	2000-7500/mm ³
2. Polynucléaires Éosinophiles	<i>100</i>	40-500/mm ³
3. Polynucléaires Basophiles	<i>0</i>	<100/mm ³
4. Lymphocytes	<i>1900</i>	1500-4000/mm ³
5. Monocytes	<i>700</i>	100-1000/mm ³

FROTTIS

Diagnostic biologique

Vitesse de sédimentation : 123 mm (première heure). CRP : 250 mg/l (normale < 5 mg/l)

Ferritinémie : 380 µg/l (normale : 15- 250 µg/l)

CAT pratique devant Anémie microcytaire

Les choses très simples

1. Historique : hémogramme antérieur ,

2. évolution VGM++++++ ,

3. ethnie

• Variation du VGM élimine quasi systématiquement les causes Héréditaires, sont très évocatrices métabolisme fer acquis

*2 Profondeur de la microcytose et de l'anémie et leur corrélation ,
le nombre de globule rouge*

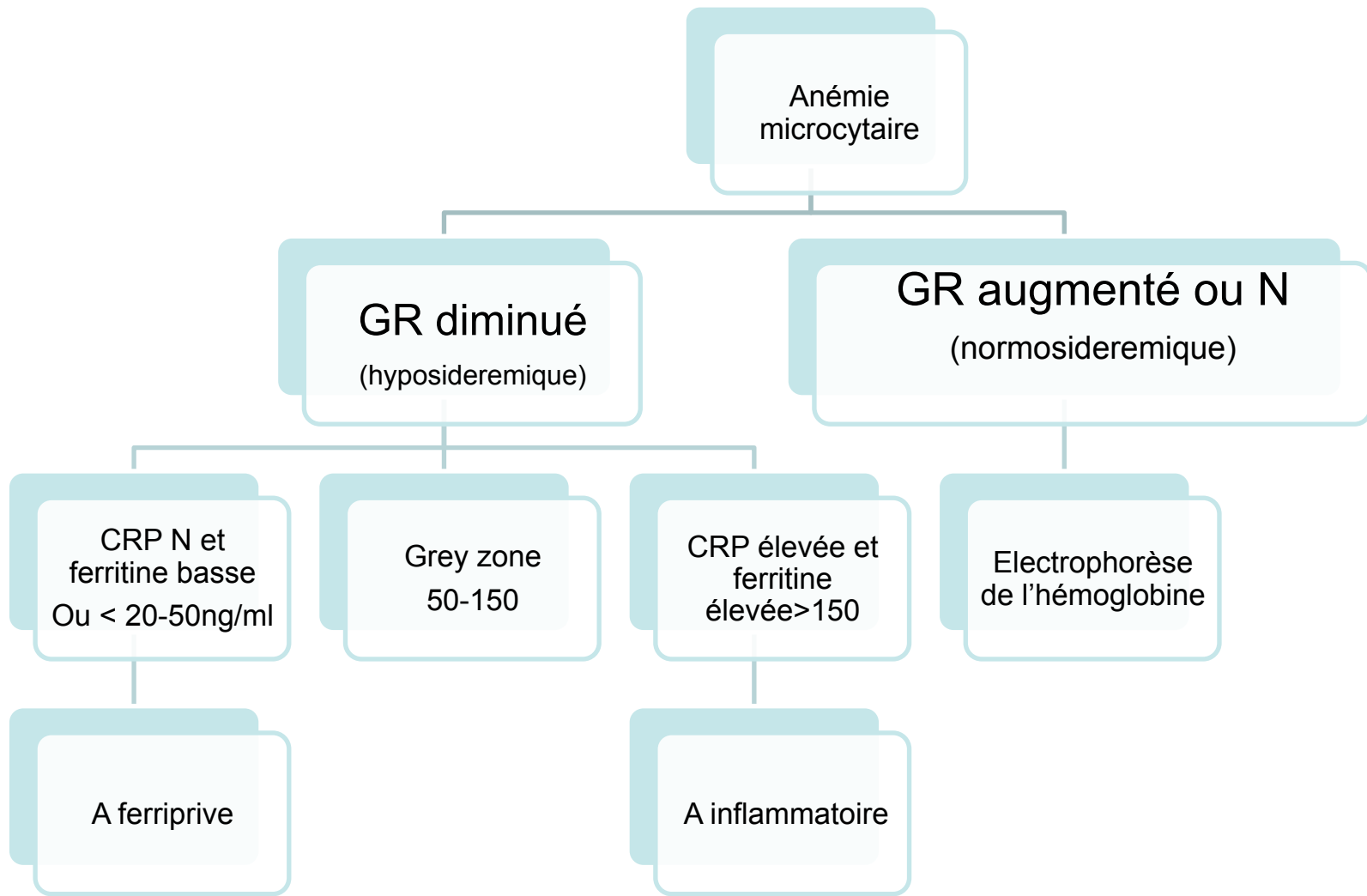
*une profonde microcytose avec un nombre élevé de GR ou normal
Est très évocateur hémoglobinopathie mineure et anémie modérée
ou pas d'anémie*

3. Anomalies cytologiques associées:

hématies cibles,

ponctuées,

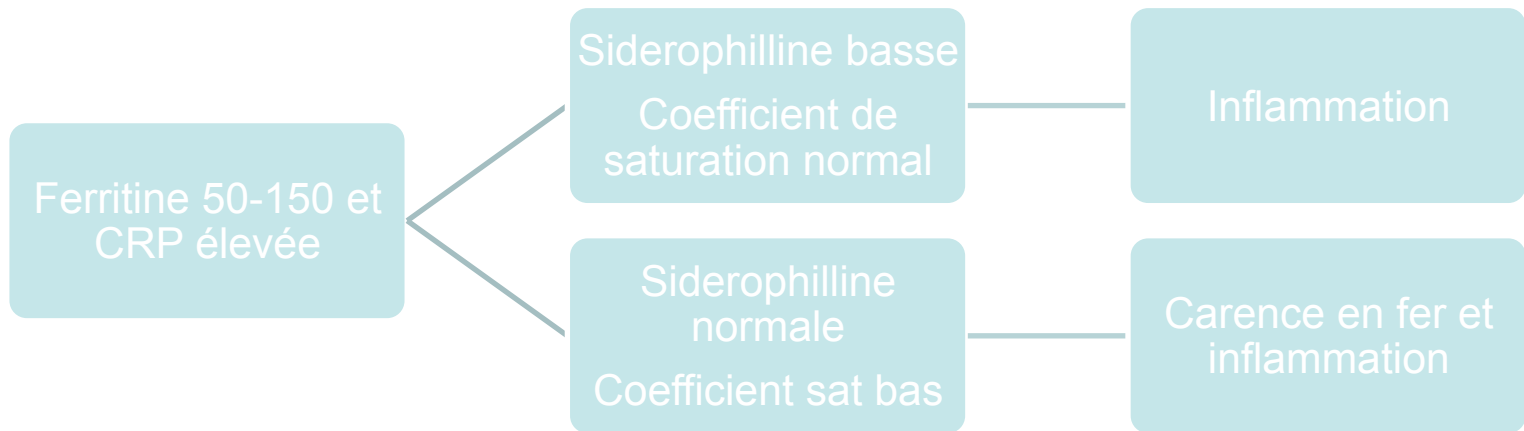
anisocytose



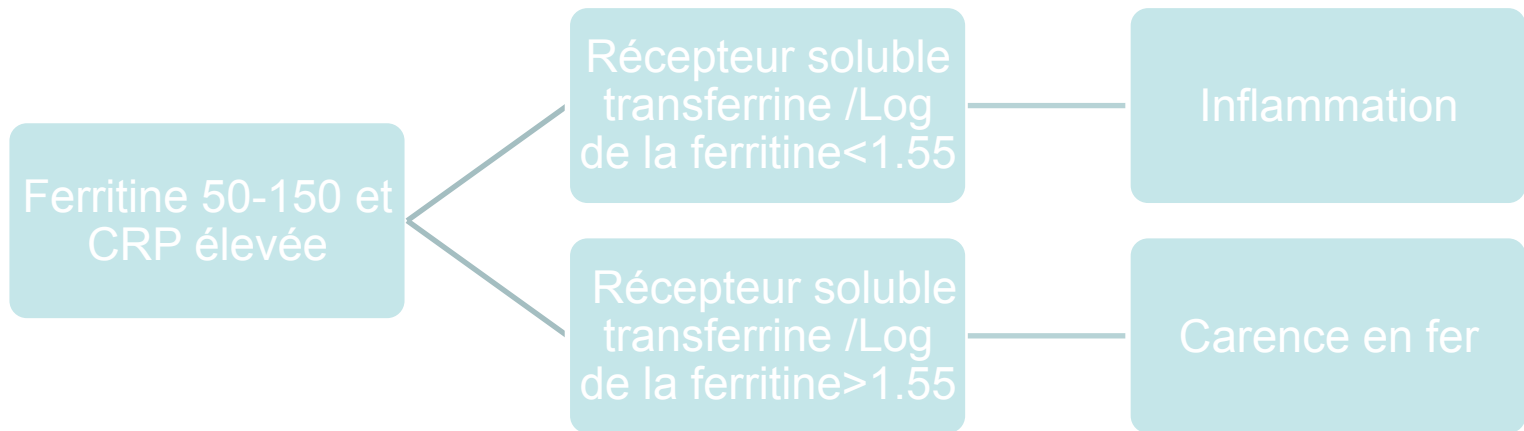
Commentaires:

**Sidéremie (diminuée Gr bas, et normale GR N)
Anomalie frottis et indices érythrocytaires
CCMH**

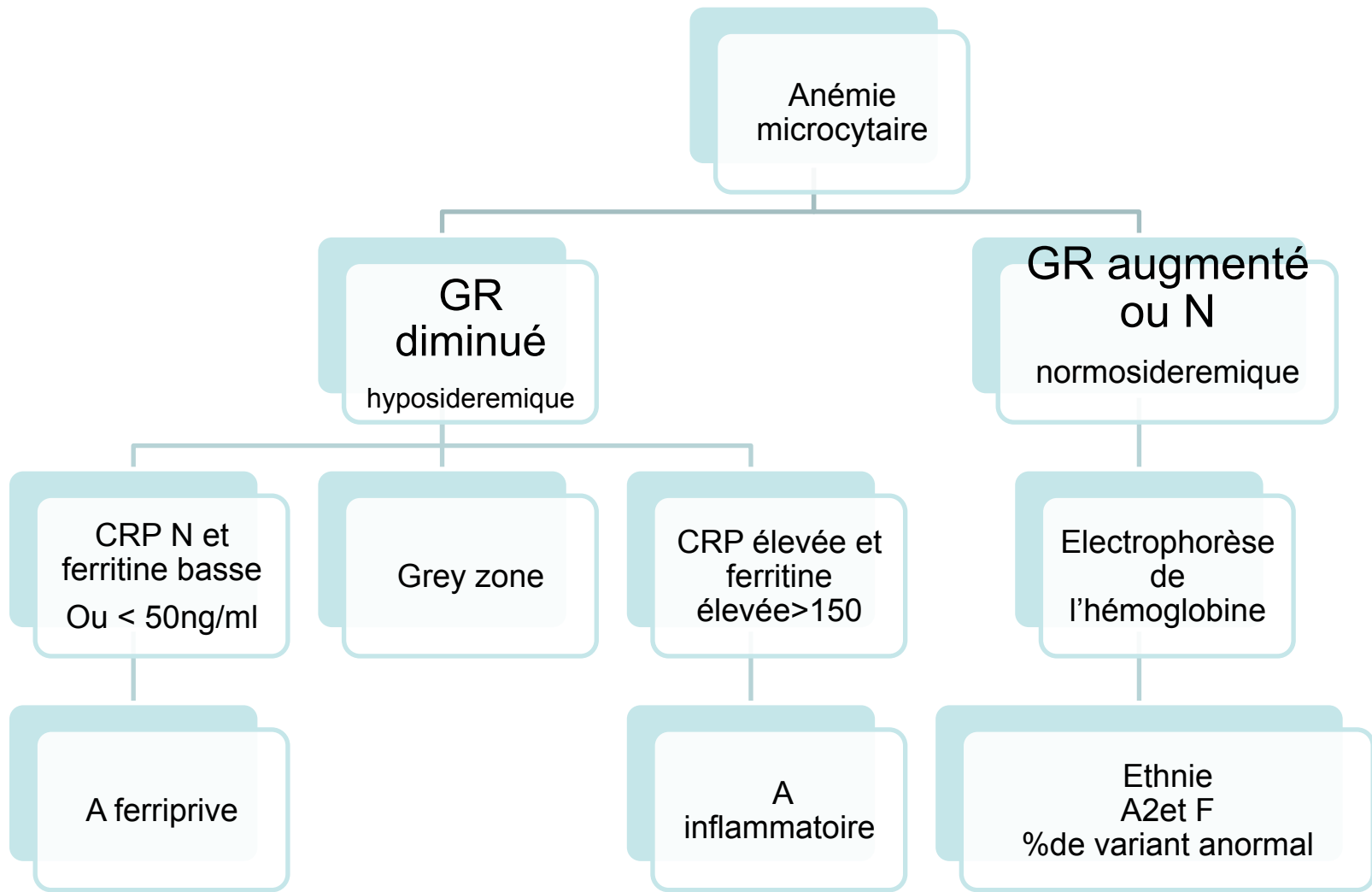
Grey zone: Eléments distinctifs : corrélation microcytose et profondeur de l'anémie, hyper leucocytose monocytose , niveau d'anémie, contexte clinique



Eléments distinctifs : corrélation microcytose et profondeur de l'anémie, hyper leucocytose monocytose , niveau d'anémie, contexte clinique



Recepteur soluble transferrine est élevé en cas de carence martiale, non influence par inflammation



Commentaires:

**Sidéremie (diminuée Gr bas, et normale GR N)
Anomalie frottis et indices érythrocytaires
CCMH (normal Hb, puis infl, puis ferriprive)**

CAT pratique devant Anémie microcytaire

1. Bilan biologique débrouillage (par étape)

1 Ferritine, CRP, fibrinogène

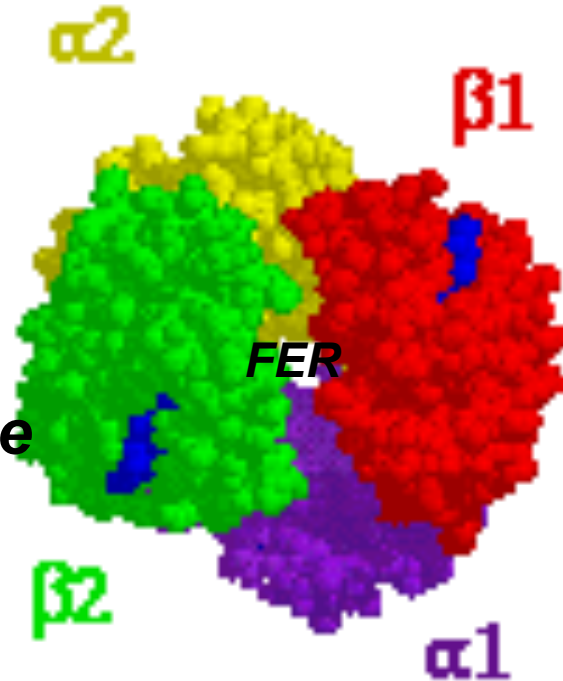
2 Sidéremie ,CSS, CTF ,bilan hémolyse, réticulocytes et électrophorèse de l'hémoglobine

3 dosage protéique de la transferrine

4 Myélogramme et Perls

5 Examens très spécialisés

hémoglobinoformation



Hb A ou A1
(type adulte)
 $\alpha 2 \beta 2$

- **Métabolisme du fer**
- **Anomalie de la globine**
- **Anomalie de l'hème**

4 chaînes polypeptidiques identiques 2 à 2
Poche de l'hème contenant le fer : site de liaison de O⁻
Cavité centrale du 2-3 diphosphoglycérate (2-3 DPG)

Case 3

Présentation clinique

Jeune femme

origine vietnamienne

âge 20 ans

consultant pour une asthénie.

Elle n'a aucun antécédent personnel pathologique. Ses parents sont en bonne santé. L'examen clinique est normal. Une numération sanguine est demandée ainsi qu'une ferritine sérique.

Diagnostic biologique

Hémogramme

**Globules rouges : $5,34 \times 10^{12}/l$; hémoglobine : 11,6 g/dl ; VGM : 66,6 fl ;
TCMH : 21,7 pg ; CCMH : 32,6 g/dl ; leucocytes : $6,3 \times 10^9 /l$; plaquettes : $204 \times 10^9 /l$.**

Frottis sanguin

Microcytose, hypochromie, hématies cibles.

Examens complémentaires

Ferritinémie : 50 $\mu\text{g}/l$ (normale : 20-185 $\mu\text{g}/l$)

CRP normale, VS normale

Etude de l'hémoglobine :

- Hb A2 : 1,9%

- Hb F : 0,5%

- Hb A: 97,6%

Etude de l'hémoglobine :

- Hb A2 : 1,9%

- Hb F : 0,5%

- Hb A: 97,6%

Ces éléments sont en faveur d'une alpha-thalassémie mineure.

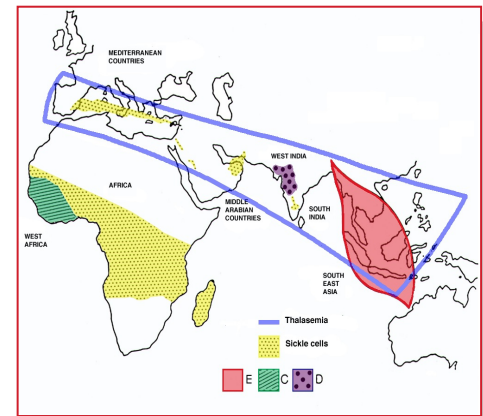
La recherche d'inclusions d'Hb H est positive (< 1 pour 1000 hématies).

Biologie moléculaire : la recherche de délétions des gènes alpha est positive pour la délétion alpha SEA (délétion de 2 gènes alpha sur 4).

Discussion Commentaires

L'alpha-thalassémie par absence de 2 gènes alpha est très fréquente en Asie. Elle est responsable d'une thalassémie mineure. Il est nécessaire d'éliminer une carence martiale latente qui donne également une microcytose et une hypochromie. Le conseil génétique doit permettre de prévenir cette jeune femme du risque d'hydrops foetalis si son conjoint est lui-même porteur d'une délétion de 2 gènes alpha.

interprétation de l'électrophorèse de l'hb (caractéristiques générales NF: frottis, GR, profondeur anémie)



Pas d'anomalies à l'électrophorèse

- **Hb normale** (pseudo polyglobulie possible: nb de GR $\pm \uparrow$, mais Hte normal bas VGM très bas **55 – 65**)
- dissociation entre anémie souvent absente et microcytose tres profonde (hypochrome) CCMH **28-30** qq GR cible et GR ponctués

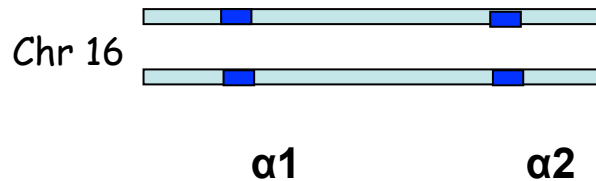
Alpha thal mineure/minime

Pas de grossesse , NF conjoint

Vous pouvez conclure alpha thal

Classification clinique et génétique des α thalassémies

Gène α globine



Phénotype	Gènes fonctionnels
Sujet normal	4 gènes ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$)
α -thal2 (silencieuse)	3 gènes ($\alpha\alpha/\alpha-$)
α -thal1 (mineure)	2 gènes ($\alpha\alpha/- -$) ($\alpha-/ \alpha -$)
Hémoglobinoase H	1 gène ($- \alpha/ - -$)
Hydrops foetalis	0 gène ($- -/ - -$)

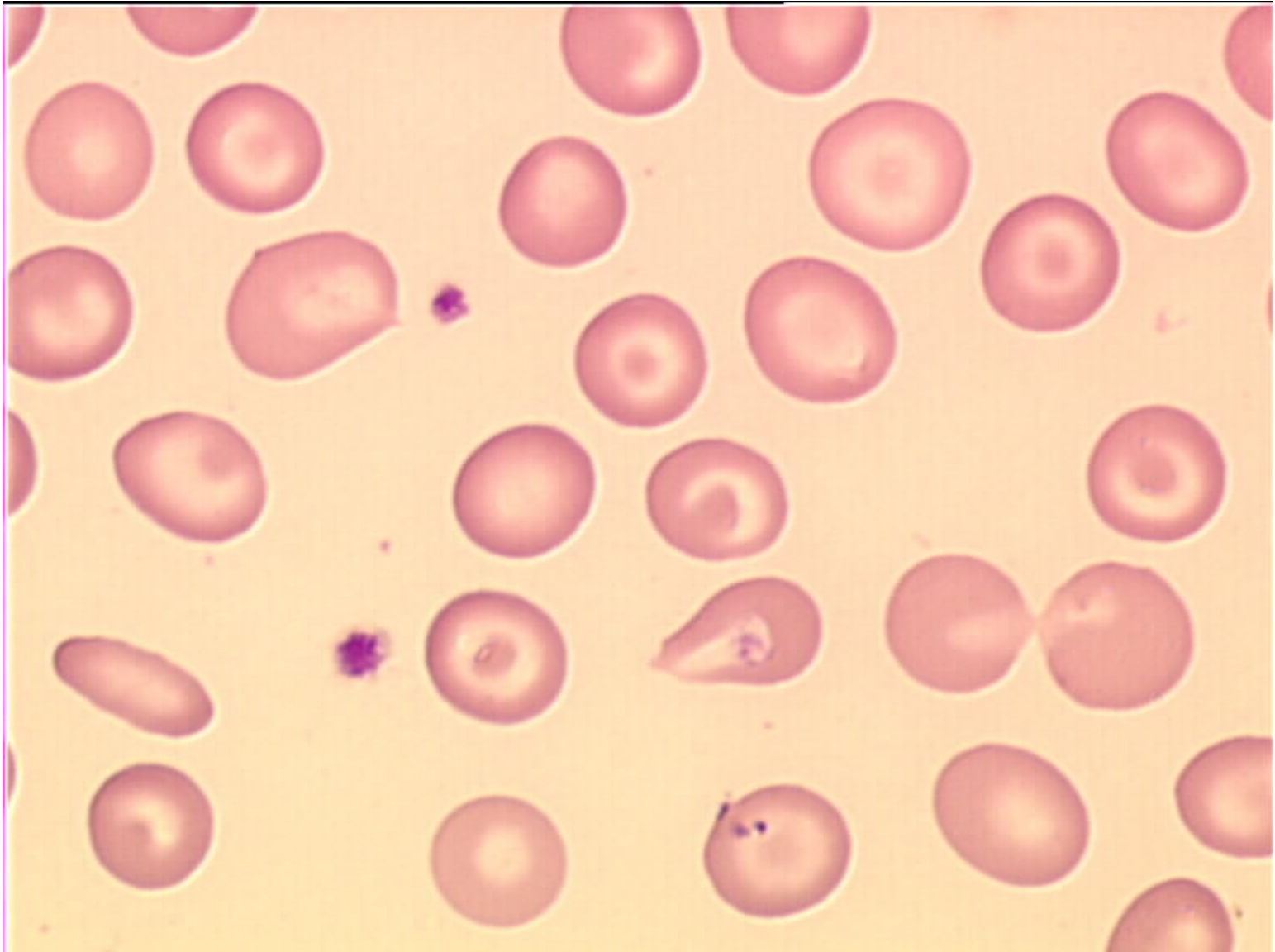
Les α thalassémies

- Lésion monogénique la plus répandue dans le monde
- Les α thal délétionnelles sont les plus fréquentes.
- Un seul gene deficiant : seul élément d'orientation, la microcytose (inconstante; à la limite inférieure de la normale)
- Deux gènes deficients : pseudo polyglobulie microcytaire avec ou sans anémie
 - Hb normale outres légèrement diminuée
 - microcytose intense ($50 < VGM < 60$ fl)
 - **hypochromie constante**
 - nbre GR normal ou augmenté; réticulocytes en nbre normal
 - GB et plaquettes en nbre normal

Les α thalassémies

- **Frottis sanguin**
 - *Un seul gene deficient* : anomalies morphologiques érythrocytaires inconstantes
 - *Deux genes deficients* : anomalies évocatrices de thalassémie
 - anisocytose, microcytose profonde , hypochromie, hématies cibles, hématies ponctuées

α thal(mineure)



Case 4

La consultation

27 ans, hospitalisé pour une amygdalectomie. A l'interrogatoire on ne retrouve aucun antécédent personnel particulier. Les parents sont en bonne santé. Le bilan préopératoire comportait une numération sanguine qui montre une discrète anémie microcytaire. L'examen clinique est normal.

Diagnostic biologique

Hémogramme

Globules rouges : 5,8 x 10¹²/l ; hémoglobine : 10,8 g/dl ; VGM : 62 fl ; TCMH : 18,4 pg ; CCMH : 33,7 g/dl ; leucocytes : 10,4 x 10⁹/l ; plaquettes : 314 x 10⁹/l ; réticulocytes : 70 x 10⁹/l.

Frottis sanguin

microcytose, une hypochromie, des cellules cibles, quelques hématies ponctuées et quelques érythrocytes.

Ferritine plasmatique : 55 µg/l (normale : 20-115 µg/l)

CRP normale

Did you forgot something???

Antériorité NF

Origine ethnique italien

Etude de l'hémoglobine :

Hb A2 : 5,1%

Hb F : 2,5%

Hb A : 92,4%

Ces éléments sont en faveur du diagnostic de beta -thalassémie hétérozygote.

Chez un sujet européen ou méditerranéen interprétation de l'électrophorèse de l'hb (caractéristiques générales NF: frottis, GR, profondeur anémie)

HbA2 : 3 - 8 %

Bêta thalassémie mineure : Hb F : 1 – 4% (= N ou un peu augmentée)

Hb A : 92 – 95%

HbA2 : 3 - 8 %

- **Hb 11 – 14 (H) et 10 – 13G:dl (F)** ,(pseudo polyglobulie possible: nb de GR $\pm \uparrow$, mais Hte normal bas VGM très bas **55 – 65**)
- dissociation entre anémie souvent absente et microcytose profonde (normochrome ou peu hypochrome) CCMH **31 – 34** qq GR cible et GR ponctués

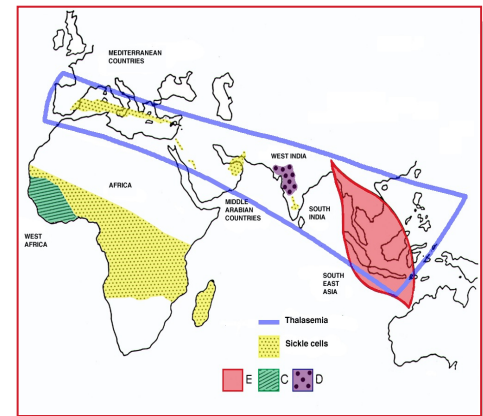
ATTENTION

Fausse augmentation A2 : hb instable,

Non génétique: hyperthyroïdie, Anémie megaloblastiques

Diminution A2 : carence en fer profonde (difficile d e faire diagnostic si carence

Associée (historique NF) , Hb H (alpha thal)



Evolution-Discussion

L'enquête familiale révèle que le père est également porteur de la même anomalie. On apprend qu'il a reçu du fer à plusieurs reprises à cause de la petite taille de ses globules rouges. La mère est indemne de toute anomalie de la numération sanguine et l'étude de l'hémoglobine est normale chez elle.

L'intérêt de ce diagnostic est qu'il permet d'éviter au sujet des traitements intempestifs par du fer.

Lorsque le diagnostic est porté chez l'un des membres d'un couple, il est indispensable de contrôler la numération sanguine et l'étude de l'hémoglobine du conjoint à la recherche d'une thalassémie ou d'une autre hémoglobinopathie dont l'association pourrait être responsable d'une pathologie sévère. Si le conjoint est aussi porteur d'une pathologie de l'hémoglobine, le conseil génétique devra déterminer le risque pour la descendance et proposer, si la famille le souhaite, une étude moléculaire en vue d'un diagnostic prénatal lors d'une future grossesse.

Case 5

Présentation clinique

**Jeune femme de 30 ans de nationalité française d'origine thaïlandaise ,
mariée à un français**

Le couple vient de s'installer en France.

La jeune femme consulte pour asthénie

Elle n'a pas d'antécédent pathologique particulier

**Vous la trouvez légèrement ou possiblement ictérique
et percevez une pointe de rate**

Diagnostic biologique

Hémogramme

**Globules rouges : $5,61 \times 10^{12}/l$; hémoglobine : 11,2 g/dl ;
VGM : 59,8 fl ; TGMH : 20 pg ; CCMH : 33,5 g/dl ; leucocytes : $8,29 \times 10^9/l$; plaquettes : $284 \times 10^9/l$;**

Examens complémentaires

réticulocytes : $102 \times 10^9/l$, Ferritine sérique normale : 80 $\mu\text{g}/l$, crp et vs dans les valeurs normales.

**bilan hépatique normal ,
Bilirubine totale 16mg/l principalement de la libre (non conjuguée)**

Etude de l'hémoglobine : **HbE : 95 %**
Hb A2: 2%

– 3%

Hb F : 1

L'étude de l'Hb permet de conclure à une hémoglobinose E homozygote .

Evolution-Discussion

L'hémoglobine E est fréquente en Asie du Sud Est. Cette hémoglobine de structure anormale, due à une mutation du codon 26 de la chaîne beta -globine [b26Glu ®Lys] s'accompagne d'une diminution de l'expression de la chaîne beta -globine mutée. Elle est donc associée à un phénotype de thalassémie avec microcytose et hypochromie. *Hémoglobine E hétérozygote :*

HbE : 20 – 40 %

Hb A : 60 -80%

Hémoglobine E homozygote : **HbE : 95 %**

Hb F : 1

– 3%

Ici manifestations cliniques et bilan hématologique plaident en faveur d'une hémoglobine E homozygote,

Attention l'association E/beta thalassémie donne lieu à un tableau clinique généralement un sévère de type beta-thalassémie intermédiaire ou majeure.

Verifier lithiase vésicule tous les 5 ans et reconvoc 1 A 5 ans

Case 6

Présentation clinique

âgée 19 ans

ictère chronique connu

A pris du fer oral en alternance depuis 1 an car anémie chronique

1 frère indemne de tout mais on lui aurait déjà dit qu'il avait de s petits globules rouge

Les parents: origine mère Bangladesh père Laos

**L'examen clinique retrouve un ictère cutanéomuqueux
une splénomégalie.**

Le reste de l'examen est normal.

NF

Diagnostic biologique

Hémogramme

Globules rouges : $4,68 \times 10^{12}/l$; hémoglobine : 8,1 g/dl ; VGM : 61,3 fl ; TCMH : 20,6 pg ; CCMH : 28,8 g/dl ; leucocytes : $7,9 \times 10^9/l$; plaquettes : $328 \times 10^9/l$; réticulocytes : $710 \times 10^9/l$.

Frottis sanguin

On observe une aniso-poikilocytose majeure, une microcytose, une hypochromie, la présence d'hématies fragmentées et 1%érythroblastes.

Examens complémentaires

réticulocytes : $710 \times 10^9/l$. Ferritinémie : 275 $\mu\text{g}/l$

Bilirubine libre : 97 $\mu\text{mol}/l$

Etude de l'hémoglobine et isofocalisation électrique

présence d'Hb H : 17%

Hb A2 : 1,6%

HB F : 2%

Hb A : 79,4%

Hémoglobinoze H

- Absence fonctionnelle de 3 gènes α de globine
- Les chaînes β en excès forment des tétramères d'Hb H (β_4) instables qui précipitent essentiellement dans le cytoplasme des GR sous forme d'hémichromes.
- Ces GR seront phagocytés par les macrophages de la rate
 - hémolyse chronique avec anémie et hyper-réticulocytose.

Diagnostic biologique

Etude de l'hémoglobine et isofocalisation électrique

présence d'Hb H : 17%

Hb A2 : 1,6%

HB F : 2%

Hb A : 79,4%

Recherche d'inclusions érythrocytaires d'Hb H : elle est positive (plus de 70% des hématies) avec présence de balles de golf et de grosses inclusions d'Hb H.

Biologie moléculaire des gènes α -globine : présence des délétions α -3.7 et α SEA correspondant à la disparition de 3 gènes α -globine.

Discussion

L'hémoglobinose H est responsable d'une anémie hémolytique chronique, partiellement compensée par une hyperréticulocytose majeure. Elle est due, dans la majorité des cas, à la délétion de 3 gènes alpha (α -thal 1 chez l'un des parents, α -thal 2 chez l'autre). L'hémolyse chronique peut se compliquer de crises de déglobulisation plus sévères survenant à l'occasion d'épisodes infectieux par exemple. La tolérance clinique de l'anémie étant généralement bonne, les besoins transfusionnels sont faibles ou inexistants. Des besoins transfusionnels importants doivent faire évoquer un hypersplénisme et envisager une splénectomie.

Supplémentation ac folique

Attention erythroblastopenie B19

Lithiase vesiculaire et conseil génétique

Crise d'hémolyse aigue sévère (infection inflammation)

Hémoglobinosose H

- *Numération*

- anémie (8 à 10 g/dl) hypochrome très microcytaire (50-60 fl)
- **régénérative (réticulocytes > 5%)**
- nombre de GR normal
- GB et plaquettes en nombre normal

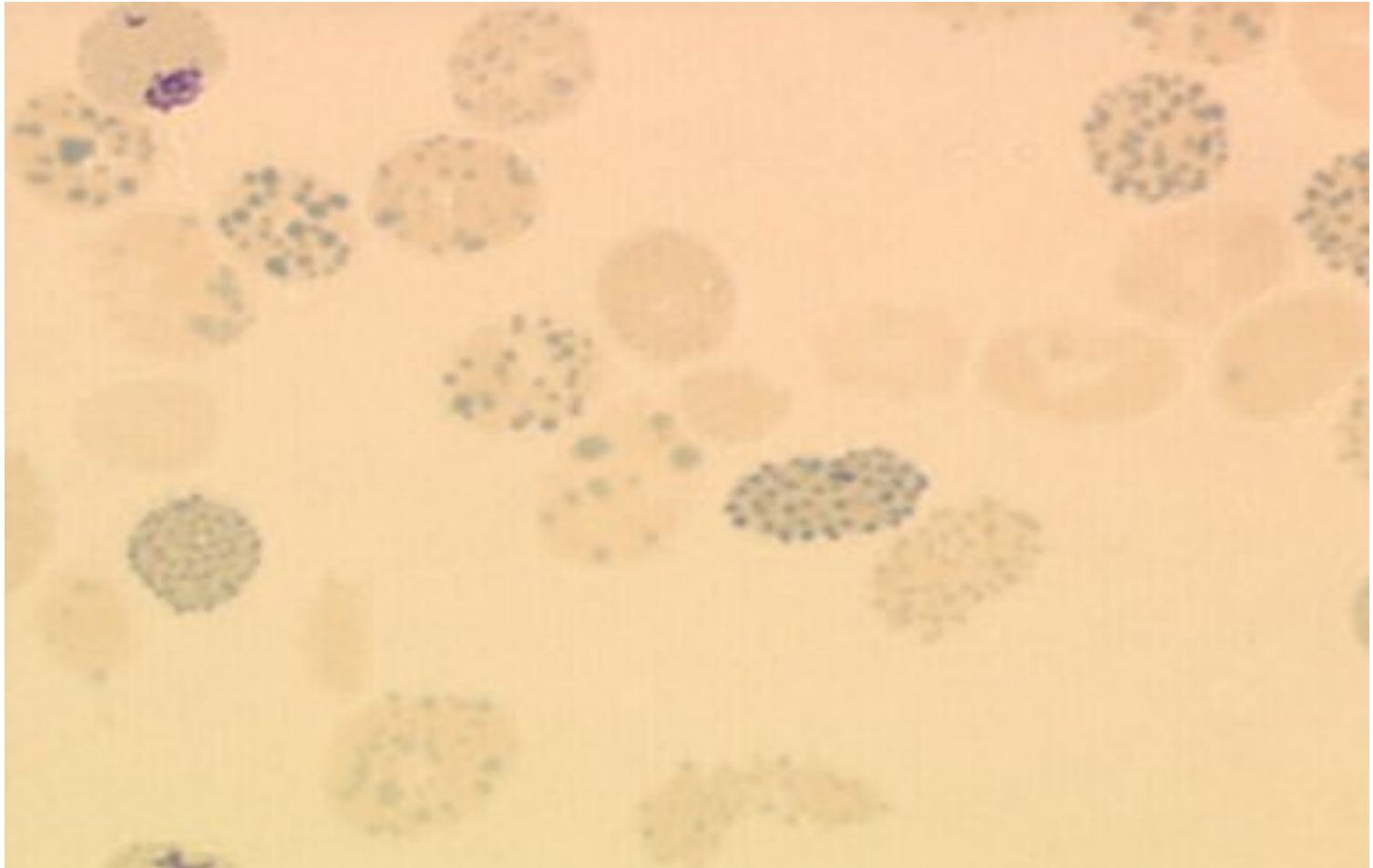
- *Frottis sanguin*

- importante anisocytose, microcytose, hypochromie
- poikilocytose : schizocytes, sphérocytes, elliptocytes, dacryocytes, ...
- cellules cibles, ponctuations basophiles, corps Heinz

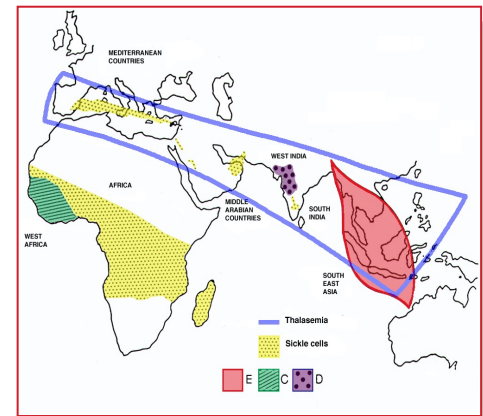
Hémoglobinoze H

- *Recherche de corps de Heinz*
 - élément diagnostique important
 - incubation du sang à 37° dans une solution de colorants supra vitaux (bleu de crésyl brillant, violet de méthyle...). L'Hb H précipite et forme des inclusions sphériques bleu vert réparties sur toute l'hématie lui donnant un *aspect caractéristique en «balle de golf»*. Réalisation d'un frottis après une heure et trois heures d'incubation
 - la majorité des hématies contient ces inclusions.

Hb H corps de Heinz



interprétation de l'électrophorèse de l'hb (caractéristiques générales NF: frottis, GR, profondeur anémie)



Alpha thal mineure/minime : Pas d'anomalies à l'électrophorèse

Alpha thalassémie majeure : HbA : 70 -95% (retic)

Hb H : 1 -30%

(chez le nouveau-né : 10 à 30 % d'hémoglobine Bart's γ_4)

Case 7

Présentation clinique

Jeune fille de 16 ans d'origine toglaïse hospitalisée en urgence pour douleurs abdominales violentes de type colique hépatique

L'échographie abdominale révèle la présence de calculs biliaires.

**Un diagnostic de lithiase biliaire est porté
L'hémogramme est le suivant**

Diagnostic biologique

Hémogramme

Globules rouges : $5,08 \times 10^{12}/l$; hémoglobine : 12,2 g/dl ; VGM : 79,8 fl ;
TCMH : 24,1 pg ; CCMH : 34,5 g/dl ; leucocytes : $8,00 \times 10^9/l$;

Ferritine normale

Crp normale

Reticulocytes $120\ 000/mm^3$

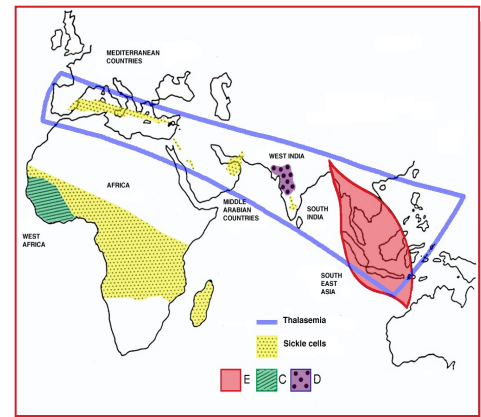
Bilirubine 13mg/l

Electrophorese hémoglobine ?

Etude de l'hémoglobine :

- Hb A2 : 3%
- Hb F : 1,5%
- Hb A 0%
- Hb C 95,5%

Evolution-Discussion



les parents sont consanguins et hétérozygotes pour l'hémoglobine C et ne sont pas porteurs d'un trait thalassémique

L'hémoglobinosose C homozygote est responsable de manifestations cliniques peu sévères.

L'anémie microcytaire est modérée, voire absente.

L'hémolyse est généralement discrète, avec un chiffre de réticulocytes normal ou légèrement augmenté.

La principale complication est la lithiase biliaire pigmentaire qui peut se compliquer de cholécystite. On décrit également des ulcères de jambe.

L'hémoglobinosose C s'observe classiquement dans les populations africaines originaires du plateau voltaïque.

Conseil genetique car risque transmission syndrome drépanocytaire

RAPPEL: Syndromes drépanocytaires

- ***Homozygote S/S***
 - anémie modérée (7-10 g/l), VGM (normal 90 fl), réticulocytes 100-250 10.3 /l
 - frottis : drépanocytes
- ***Hétérozygotie composite S/C (Afrique Ouest)***
 - anémie modérée (10-12 g/l), VGM (70-90 fl), réticulocytes 100-200 10.3 /l
 - frottis : rares drépanocytes, cellules cibles (50%), poikilocytes avec cristal, échinocytes
- ***Hétérozygotie composite S/Beta thal (maghreb)***
 - anémie modérée (7-11 g/l), VGM (65-80 fl), réticulocytes 100-150 10.3 /l
- ***Hétérozygotie S/O Arab***
 - souvent confondue avec S/C forme sévère (Hb 6 à 9 g/dl)
- ***Hétérozygotie composite S/D (pas micro)***

Case 8

La consultation

femme de 27 ans d'origine caucasienne avec une névrose d'angoisse déclarant avoir souffert le martyr d'une précédente grossesse d'une anémie microcytaire qui n'était pas ferriprive d'après les médecins qui la prenait en charge . On ne l'aurait pas transfuser à 6g d'Hb pour faire des examens a visée diagnostique qui n'on rien donné et uniquement transfusé en post partum.

Avant d'envisager une nouvelle grossesse elle veut absolument un diagnostic .

3 ans après l'accouchement l'hémogramme est le suivant

Diagnostic biologique

Hémogramme

Before this second pregnancy, her erythrocyte phenotype was: Erythrocytes Hb: 10.7 g/dl; MCV: 61.0 fl; MCHC: 31 g/dl; MCH: 19.7; reticulocytes count : 70 x 10⁹/l.

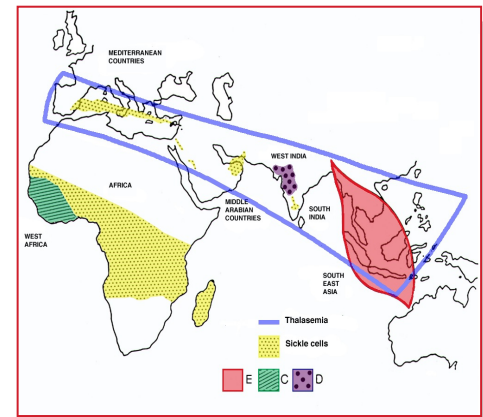
Frottis sanguin

microcytose, hypochromia, target cells

Etude de l'hémoglobine :

- Hb A2 : 3%
- Hb F : 10,5%
- Hb A : 86%

interprétation de l'électrophorèse de l'hb
(caractéristiques générales NF: frottis, GR,
profondeur anémie)



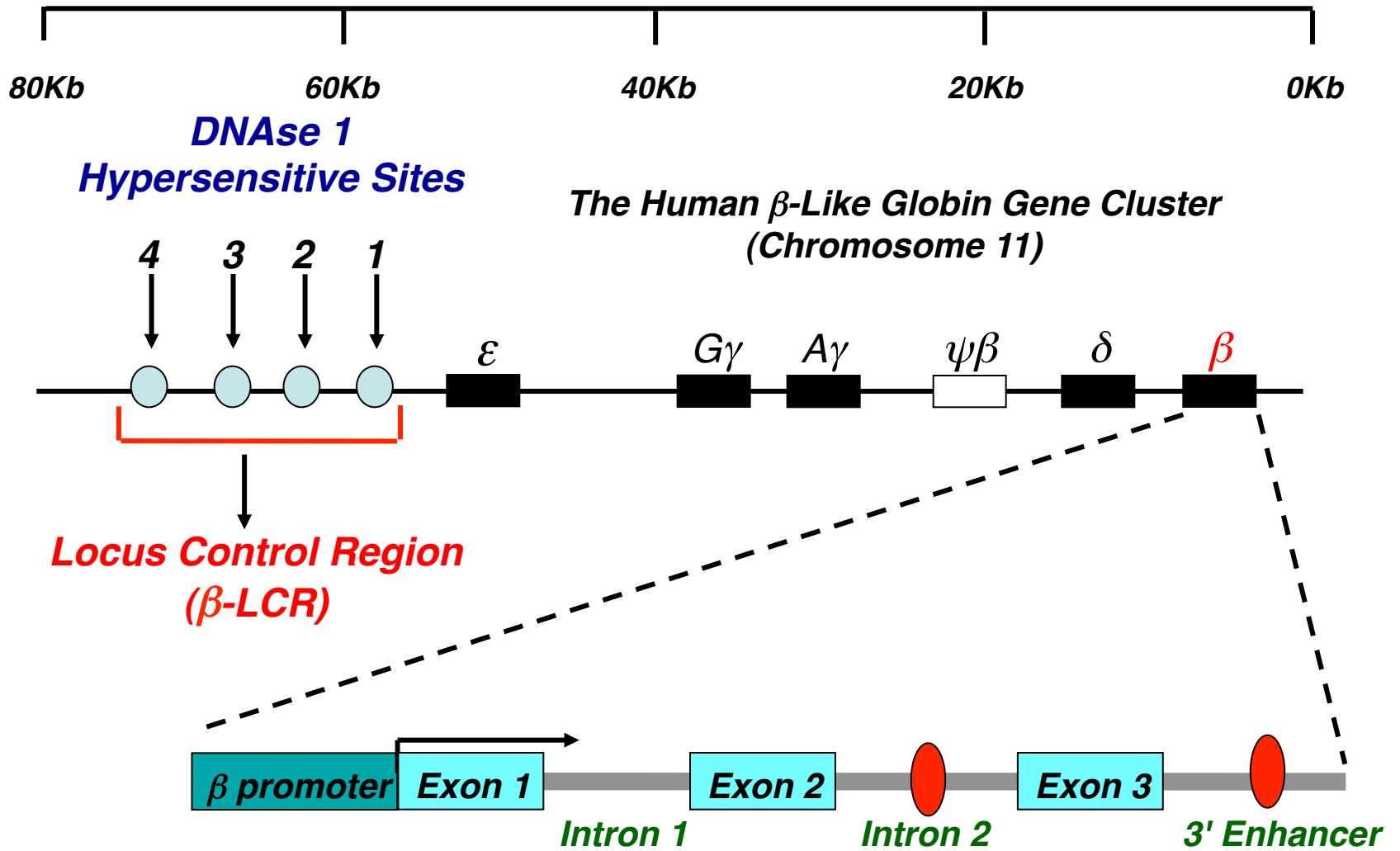
fraction anormale < 20% :

- **thalassémie rare: $\delta\beta$ thal : Hb F >5% isolé**

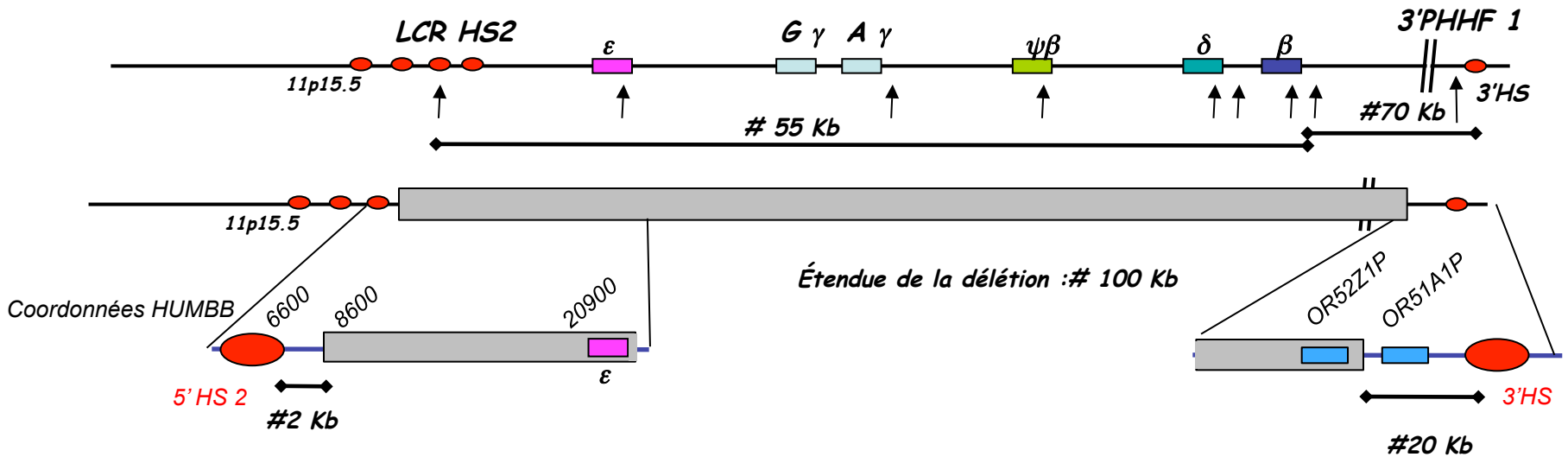
Hb 10 – 13G/dl pseudo polyglobulie possible: nb de GR
 $\pm \uparrow$, mais Hte normal bas VGM très bas **55 – 65**

dissociation entre anémie souvent absente et
microcytose profonde (normochrome ou peu
hypochrome) CCMH **31 – 34** qq GR cible et GR
ponctués

- **Hb Lepore: Hb lepore 10% isolée** (gène-fusion entre les gènes d et β).

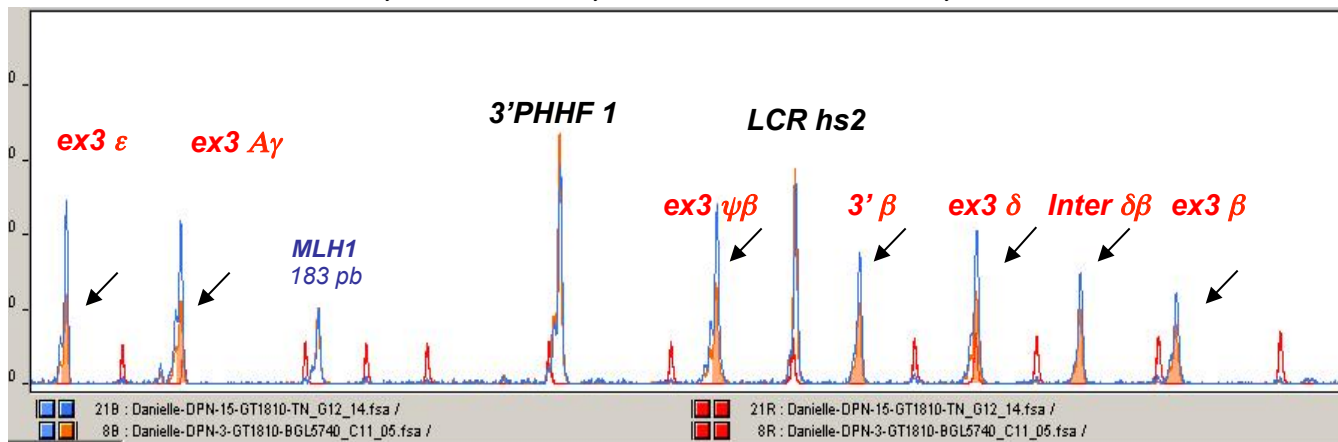


- Délétion globine del ($\epsilon, \gamma, \delta, \beta$)^othal



Recherche par QMPSF de la délétion

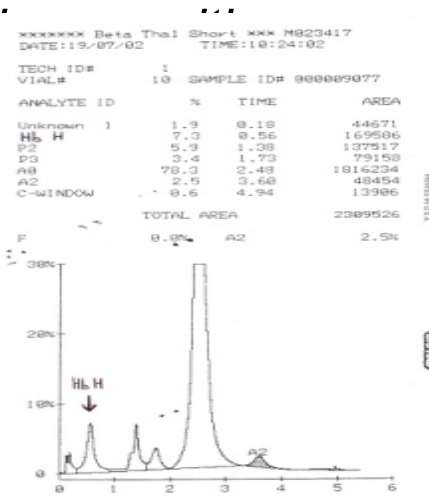
La position des différentes PCR témoins (9 amplicons) est indiquée sur le schéma du locus par des fleches;



Case 9

La consultation

72-year-old male of northern European origin presented with a long history of splenomegaly. Examination showed a moderate anaemia with a mean corpuscular volume (MCV) of 78.3 fL, a mean corpuscular hemoglobin (MCH) of 20.0 pg, and a mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) of 25.7 g/dL. A blood smear showed marked anisocytosis and poikilocytosis with target cells. The reticulocyte count was 2.65% (130,000/mL).

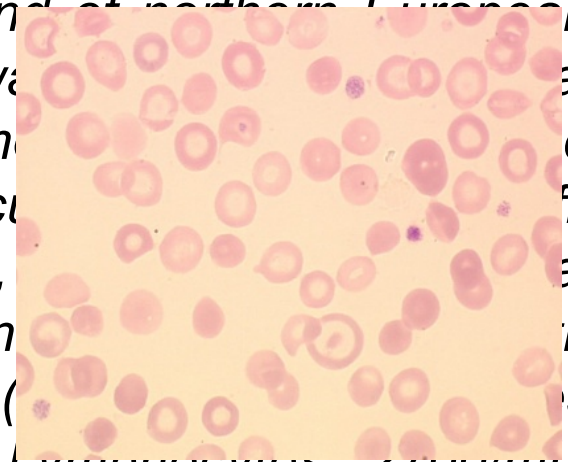


Polynuclear neutrophil 1500/mL, platelet count was 105,000/mL. C-reactive protein, fibrinogen, and serum ferritin level were normal. Reticulocytes count was 2.65% (130,000/mL).

In order to go on ?

Hemoglobin electrophoresis showed a band consistent with Hb H comprising 7.3% of total Hb, the presence of Hb H was confirmed by isoelectric focusing. The diagnosis of haemoglobin H disease was made.

ical history and of northern European origin in 2002. He was found to have a moderate anaemia (no splenomegaly) with a mean corpuscular volume (MCV) 78.3 fL, a mean corpuscular hemoglobin (MCH) 20.0 pg, and a mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) 25.7 g/dL. A blood smear showed marked anisocytosis and poikilocytosis with target cells (reticulocytes 2.65%, 130,000/mL), Lymphocytes 2700/mL, Polynuclear neutrophil 1500/mL, platelet count was 105,000/mL. C-reactive protein, fibrinogen, and serum ferritin level were normal.



La consultation (7 ans plus tard)

Three complete blood counts were performed during the 4-year follow up and were almost identical. Then the patient was lost to follow up for 3 years. In 2009 he presented again with a 3-month history of fatigue. The complete blood count showed: Hb 9.4 g/dL, mean corpuscular volume (MCV) 66fl, mean corpuscular hemoglobin (MCH) 21.8 pg. Leucocytes count was 14 500/mL, monocytes 3770/mL, lymphocytes 5220/mL, polynuclear neutrophil 5365/mL, platelet count was 124 000/mL. Hemoglobin electrophoresis showed Hb H band comprising 5.4% . Brilliant cresyl blue supra vital stain of the peripheral blood showed that 20% of the red cells contained hb H inclusions . Molecular studies done to find out a mutation in alpha globin cluster included the search for the most frequent deletions or point mutations using (i) a specific reverse dot blot p kit (Viennalab α -Globin Strip Assay™, Vienna, Austria), and (ii) the direct sequencing of $\alpha 1$ and $\alpha 2$ genes to screen for rare α non deletional α -thal traits. An in-depth study of the α -locus to search for rare deletions was done using Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) methods (MRC-Holland Salsa MLPA p-140B kit Hb A, Amsterdam, The Netherland).No rearrangement of the alpha globin cluster and no point mutations were detected by this procedure

Which evaluation in order to go on ? Your Diagnosis?

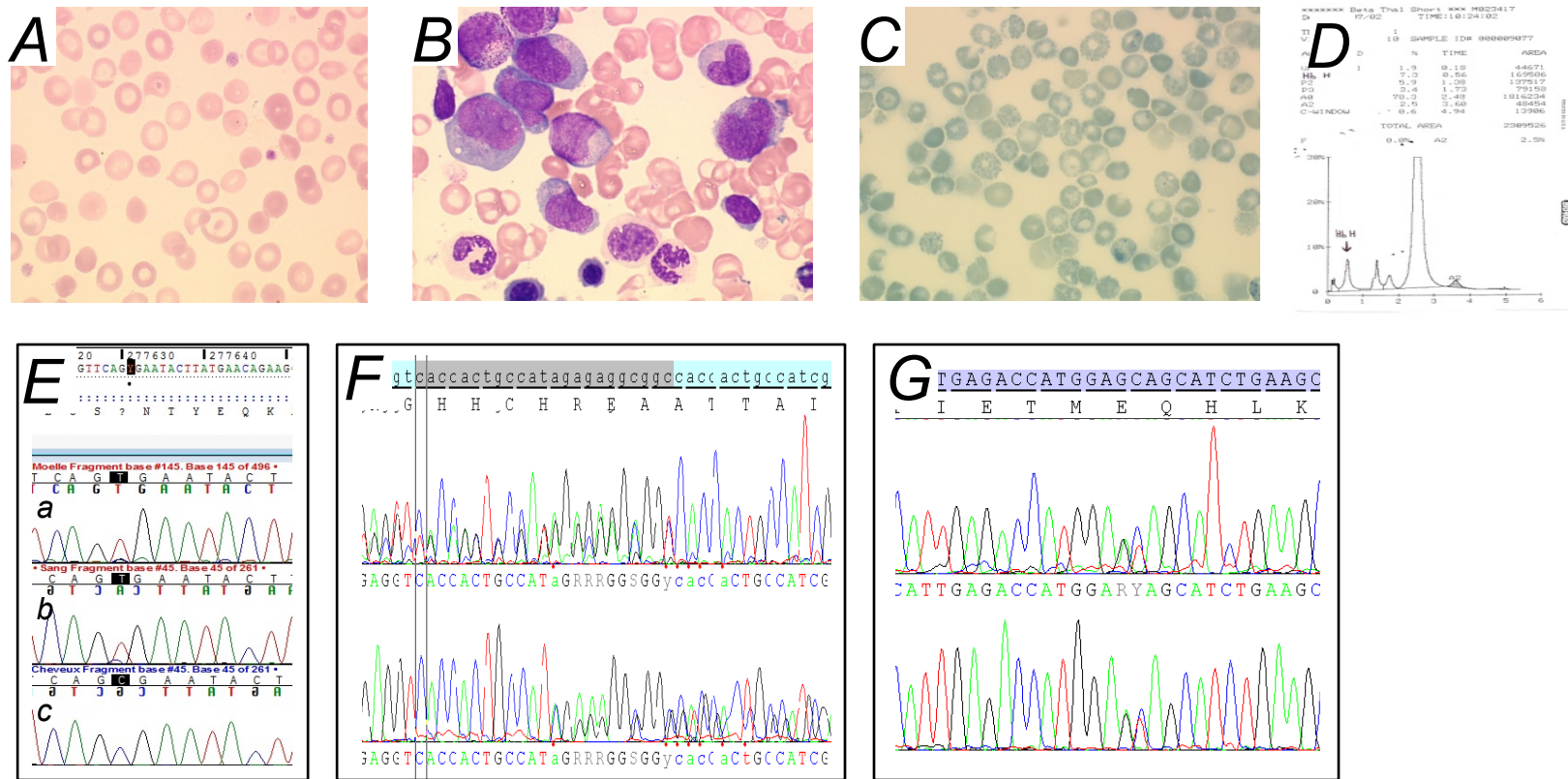
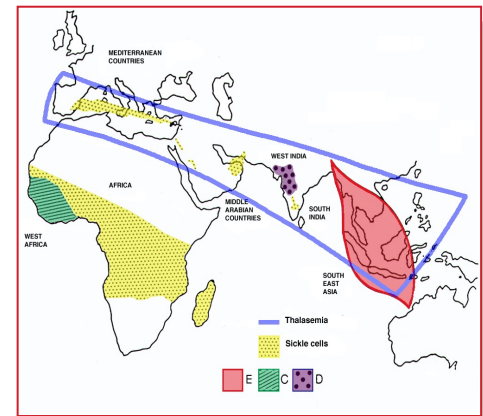


Figure 1 (A) Patient's peripheral blood smear (May-Grünwald Giemsa Staining, 1000X) demonstrating aniso poikilocytosis, hypochromic and targets cells. (B) Bone marrow aspirate (May-Grünwald Giemsa 1000X) showing global dysmyelopoiesis with excess of blasts. (C) Supra vital staining with brilliant cresyl blue method, showing Hb H "golf ball" inclusions in about 20% of erythrocytes. (D) Chromatogram of Hb H determined by HPLC β -thal Short Program (Variant I BIORAD). (E) ATRX exon 36 sequencing: lane a: DNA from blood cells and lane b: DNA from bone marrow cells: C to T transition in codon 2407; lane c: DNA form hair root cells: no mutation (F) ASXL1 mutation: E635RfsX15. (G) TET2 mutation: Q1030X

interprétation de l'électrophorèse de l'hb (caractéristiques générales NF: frottis, GR, profondeur anémie)



Alpha thal mineure/minime : Pas d'anomalies à l'électrophorèse

Alpha thalassémie majeure : HbA : 70 -95% (retic)

1 -30%

Hb H :

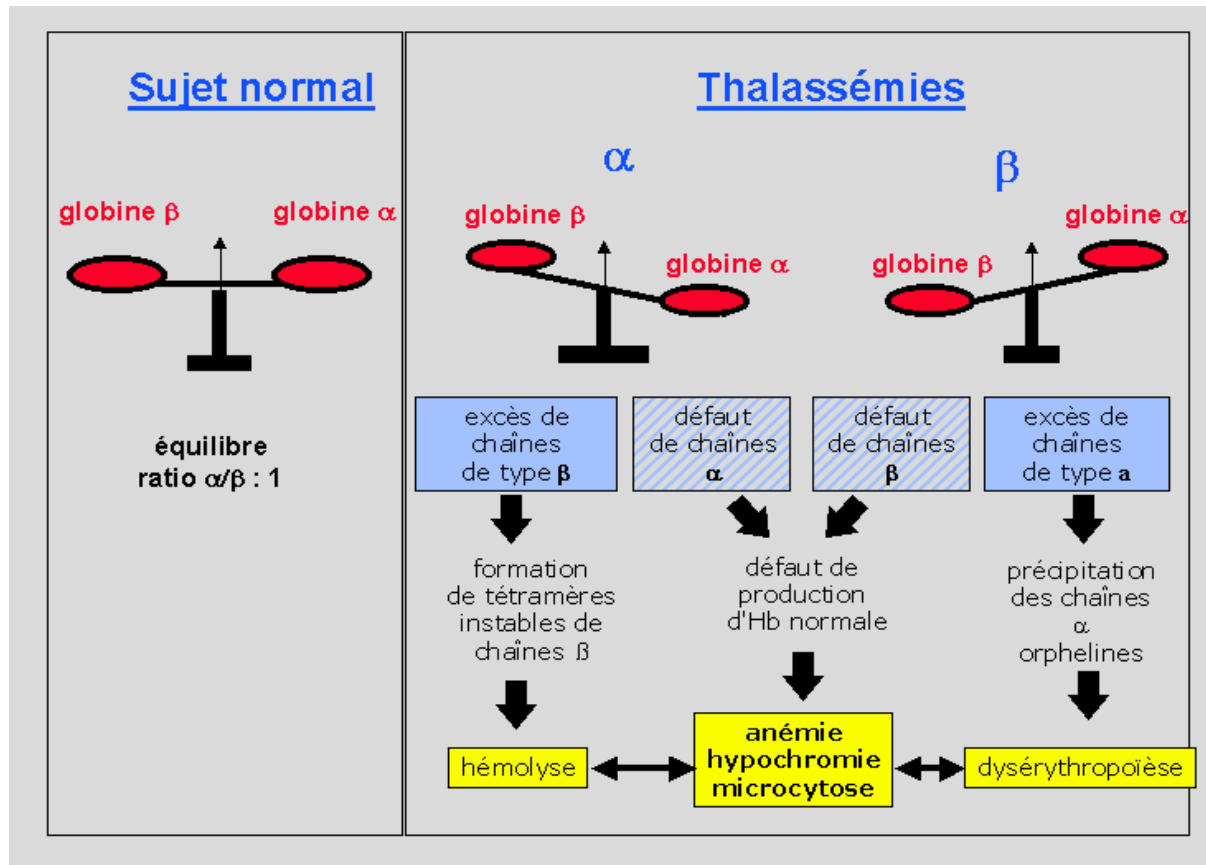
(chez le nouveau-né : 10 à 30 %

d'hémoglobine Bart's γ_4)

ATRX syndrome,

Attention possibilité de formes
acquises chez l'adulte (SMD, SMP,)

Physiopathologie des α et β thalassémies



Case 10

Présentation clinique

**Patient âgé de 30 ans, suivi pour anémie chronique.
A l'âge de 7 ans, découverte d'une anémie avec discrète
splénomégalie. Il n'y a aucun antécédent familial. Aucun
diagnostic précis porté**

**De 7 à 16 ans, le patient est transfusé une fois. Une
splénectomie est réalisée à l'âge de 16 ans.**

Diagnostic biologique

Hémogramme

Globules rouges : $4,33 \times 10^{12}/l$; hémoglobine : 8,2 g/dl ; VGM : 60 fl ; TCMH : 16,6 pg ; CCMH : 27,8 g/dl ; réticulocytes : $65 \times 10^9/l$.

Frottis sanguin

Le frottis sanguin met en évidence des globules rouges hypochromes avec de nombreuses hématies possédant des corps de Pappenheimer. La coloration de Perl's permet de vérifier qu'il s'agit bien de sidérocytes. Présence de corps de Howell-Jolly.

Examens complémentaires

ferritine à $527 \mu\text{g}/l$, Le fer sérique est à $32 \mu\text{mol}/l$, CSS 53%, CRP normale , bilirubine $10\text{mg}/l$, électrophorèse Hb normale , séquençage beta globine normale

CAT pratique devant Anémie microcytaire

1. Historique : hémogramme antérieur

2. évolution VGM+++++++,

3. ethnie

*4. Profondeur de la microcytose et de l'anémie
et leur corrélation , le nombre de globule rouge*

3. Anomalies cytologiques : hématies cibles, ponctuées, anisocytose

1. Bilan biologique débrouillage (par étape)

1 Ferritine, CRP, fibrinogène

*2 Sidéremie ,CSS, CTF, électrophorèse de l'hémoglobine,
bilan hémolyse, réticulocytes,*

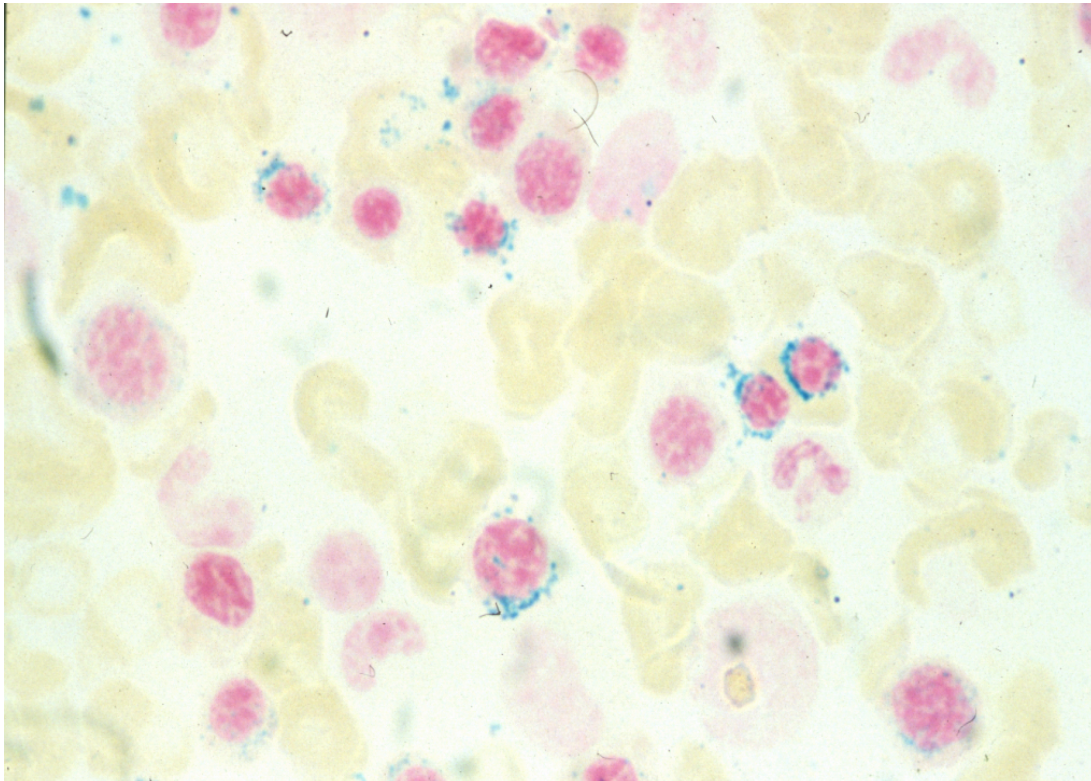
3 Myélogramme et Perls

4 Examens spécialisés (IRM hep , bio mol gènes Mb fer)

Diagnostic biologique

Myélogramme

Le myélogramme montre une érythroblastose à 60% avec de nombreuses anomalies morphologiques, en particulier des cytoplasmes effilochés. Il existe environ 75% de sidéroblastes en couronne à la coloration de Perls.



Intérêt du myélogramme

G R diminue CRP
normale ferritine
normale
Ou haute
Vs normale

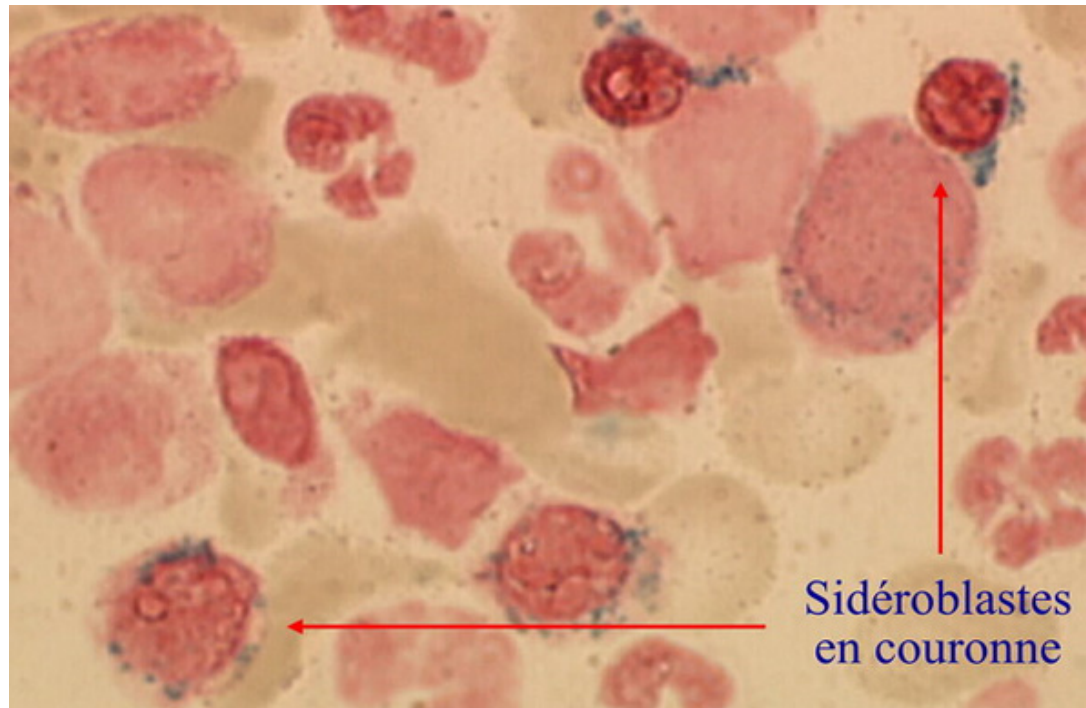
myélogramme

Pas de sidéroblastes

Sidéroblastes
En couronne > 15%

Anémies sidéroblastiques

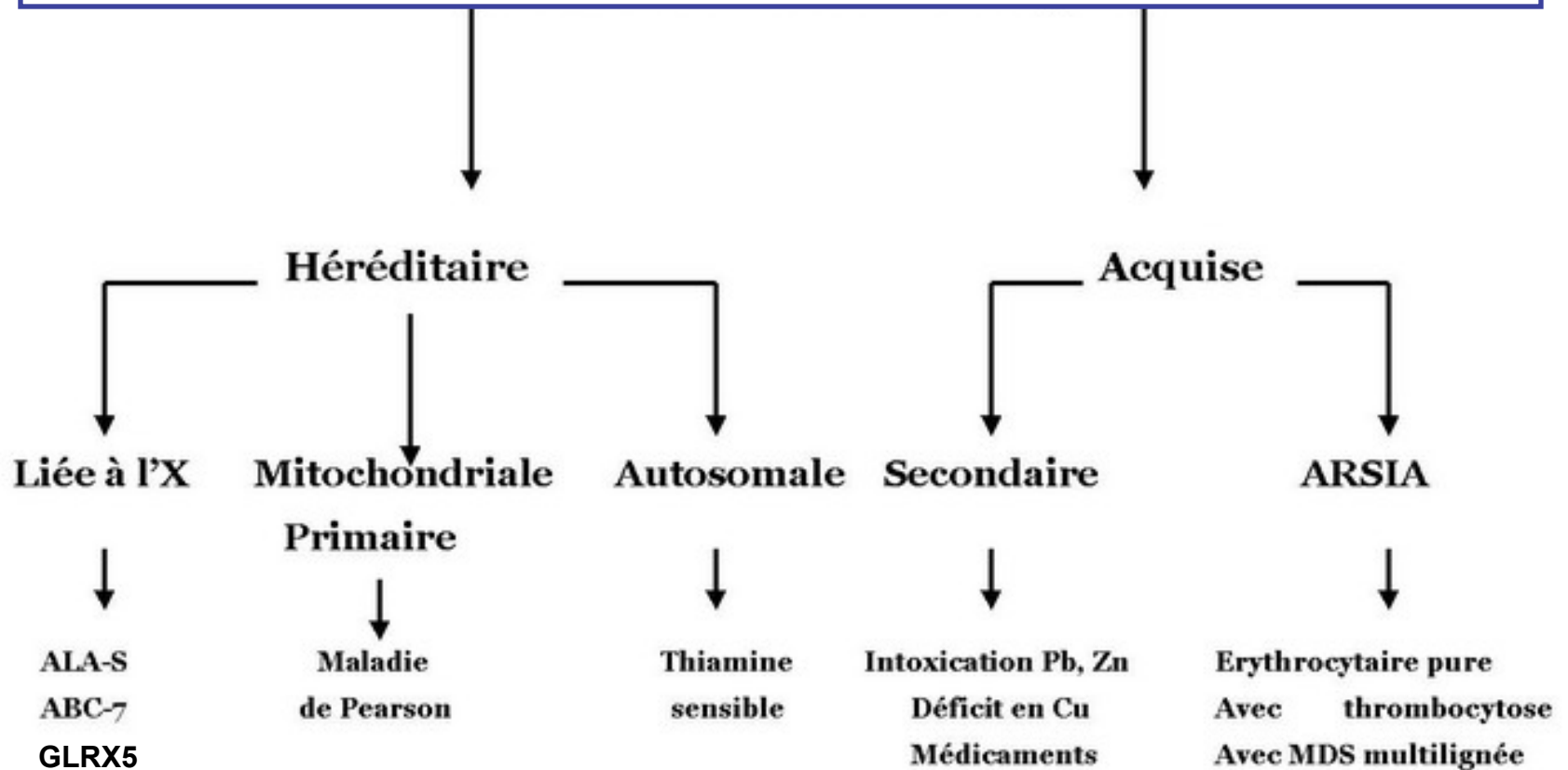
Congénitales; acquises : clonales et non clonales



ETIOLOGIES DES ANEMIES SIDEROBLASTIQUES

Congenital	
Lié à l’X	X linked sideroblastic anemia (XLSA)*
	X linked sideroblastic anemia with Ataxia (XLSA/A)*
Autosomique	Glutaredoxine – 5 deficiency*
	Thiamine responsive megaloblastic anemia (TRMA)
	Associated with erythropoietic porphyria
	Myopathy , lactic acidosis (MLA SA)
Mitochondrial DNA	Pearson syndrome
Acquired	
reversible	Alcohol, drugs (INH, Cloramphenicol)
	Copper deficiency (nutritional, zinc induced, chelation)
clonal	
	RARS
	RCMD
	RARS T

Anémies sidéroblastiques



microcytaire

macrocytaire

Normo/macrocytaire

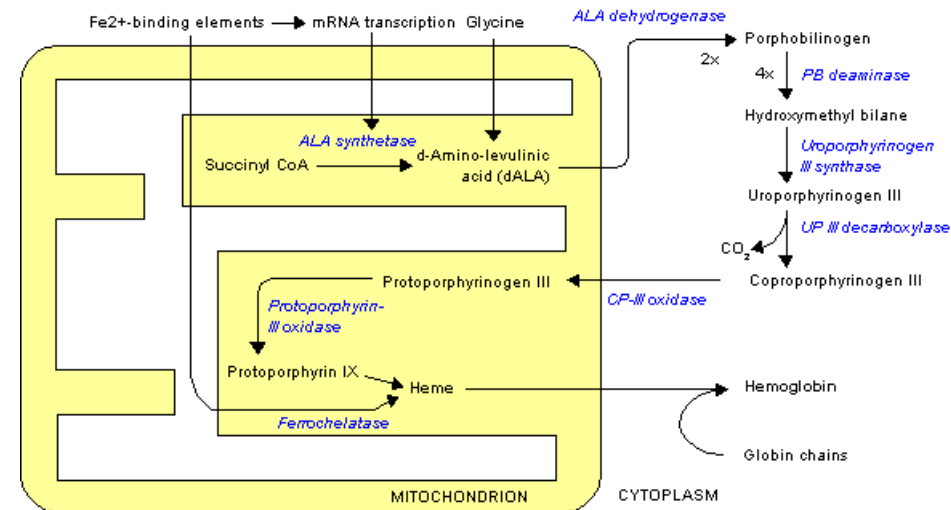
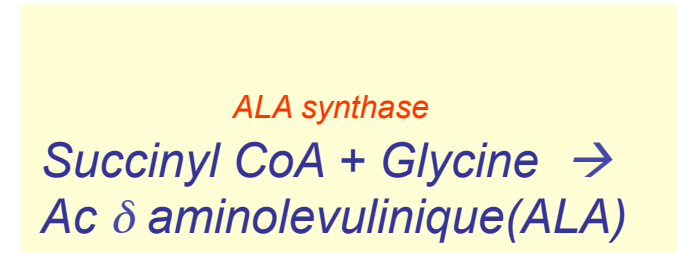
Micro : SMD plus ATRX

ETIOLOGIES DES ANEMIES SIDEROBLASTIQUES

Congenital	
Lié à l’X	X linked sideroblastic anemia (XLSA)*
	X linked sideroblastic anemia with Ataxia (XLSA/A)*
Autosomique	Glutaredoxine – 5 deficiency*
	Thiamine responsive megaloblastic anemia (TRMA)
	Associated with erythropoietic porphyria
	Myopathy , lactic acidosis (MLA SA)
Mitochondrial DNA	Pearson syndrome
Acquired	
reversible	Alcohol, drugs (INH, Cloramphenicol)
	Copper deficiency (nutritional, zinc induced, chelation)
clonal	
	RARS
	RCMD
	RARS T

Anémie sidéroblastique liée à l'X (XLSA)

- Gène : **ALAS2** (delta aminolevulinat synthétase 2), tissus érythroïdes
- Liée à l'X (garçons)
- Clinique:
 - Anémie progressive hypochrome microcytaire
 - Surcharge en fer
- Biologie
 - Moelle riche, dysérythropoïèse, sidéroblastes
 - ↑ ↑ ferritine,
- Traitement
 - Pyridoxine (vit B6)
 - Saignées ...



Anémie sidéroblastique liée à l'X avec ataxie (XLSA/A)

- Liée à l'X
- Très rare (5 familles?)
- Gène: **ABCB7** (*ATP-binding-cassette, subfamily B, member 7*)
- Clinique:
 - Anémie microcytaire sidéroblastique
 - Ataxie, retard moteur, dysarthrie
- Biologie:
 - Sidéroblastes en couronne
 - ↑ protoporphyrine érythrocytaire libre (FEP)

Mutation du gène *GLRX5*

- Gène **GLRX5** (glutaredoxine 5) = voie d'assemblage des clusters fer-soufre dans la mitochondrie
- Dérégulation des iron-regulatory protéines 1 (IRP1)
→ stabilisation du RNA du récepteur 1 transferrine (TfR), répression de la ferritine, et de la production d'ALA-synthase 2 (ALAS2) avec absence de synthèse d'hème
- Autosomique récessif
- Clinique: homme ~ 50 ans
 - Surcharge en fer
 - Anémie aggravée par les transfusions
 - mais améliorée par chélation
- Biologie
 - Anémie microcytaire
 - Sidéroblastes en couronne

Evolution-Discussion

L'analyse hématologique du sang périphérique et du myélogramme permettent de porter le diagnostic d'anémie sidéroblastique. L'ancienneté du symptôme suggère le caractère héréditaire de cette anémie. L'une des caractéristiques cytologiques de l'anémie sidéroblastique congénitale est la microcytose, ce qui l'oppose à l'anémie sidéroblastique acquise de l'adulte, qui est normochrome, normocytaire ou macrocytaire.

La numération des réticulocytes, dans cette pathologie et toutes celles s'accompagnant de sidérocytes circulants, est délicate .

Effet favorable de la vitamine B6 ?

Intérêt du myélogramme

G R diminue CRP
normale ferritine
normale
Ou haute
Vs normale

myélogramme

Pas de sidéroblastes

Sidéroblastes
En couronne > 15%

- Des raretés pédiatriques

ENZYMES

PORPHYRIES

Glucine Succinyl CoA

ALA Synthétase

ALA

ALA Déshydrase

Porphyrie de Doss

Ha

AR

neuroviscéraux

PBG

PBG Désaminase

Porphyrie Aiguë
Intermittente

Ha

AD

neuroviscéraux

Pré-URO

UROgène III Synthase

Maladie de Günther

E

AR

cutanés + hémolyse

UROgène III

UROgène Décarboxylase

Porphyrie cutanée
Familiale /Spondique

COPROgène III

COPROgène Oxydase

Coproporphyrine
Héréditaire

PROTOgène IX

PROTOgène Oxydase

Porphyrie Variéata

PROTOgène IX

Ferrochélatase

Protoporphyrine
Erythropoïétique

HEME

Nom

Type

Transmission

Symptômes

*Protoporphyrine
erythropoietique
Enfance
Ferrochélatase
(FECH)
Photosensibilité
Defaillance hépatique
Anémie microcytaire*

ENZYMES

PORPHYRIES

Glycine *Succinyl CoA*

ALA Synthétase

ALA

ALA Déshydrase

Porphyrie de Doss

PBG

PBG Désaminase

Porphyrie Aiguë
Intermittente

Pré-URO

UROgène III Synthase

Maladie de Günther

URO'gène III

UROgène Décarboxylase

Porphyrie cutanée
Familiale /Sporadique

COPRO'gène III

COPROgène Oxydase

Coproporphyrine
Héréditaire

PROT O'gène IX

PROTOgène Oxydase

Porphyrie Variégata

PROT O'ine IX

Ferrocélatase

Protoporphyrine
Erythropoïétique

HEME

Nom

Type

Transmission

Symptômes

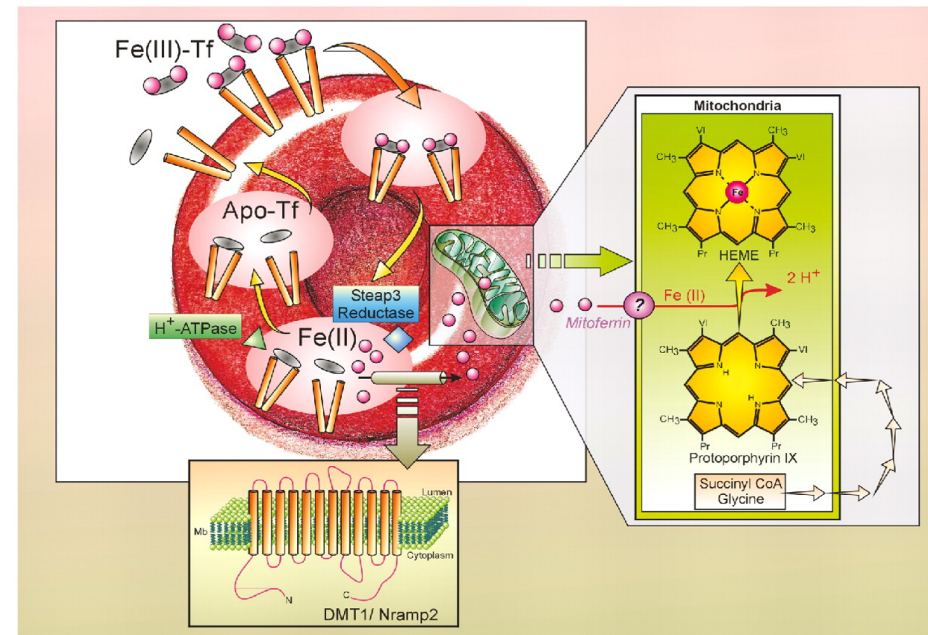
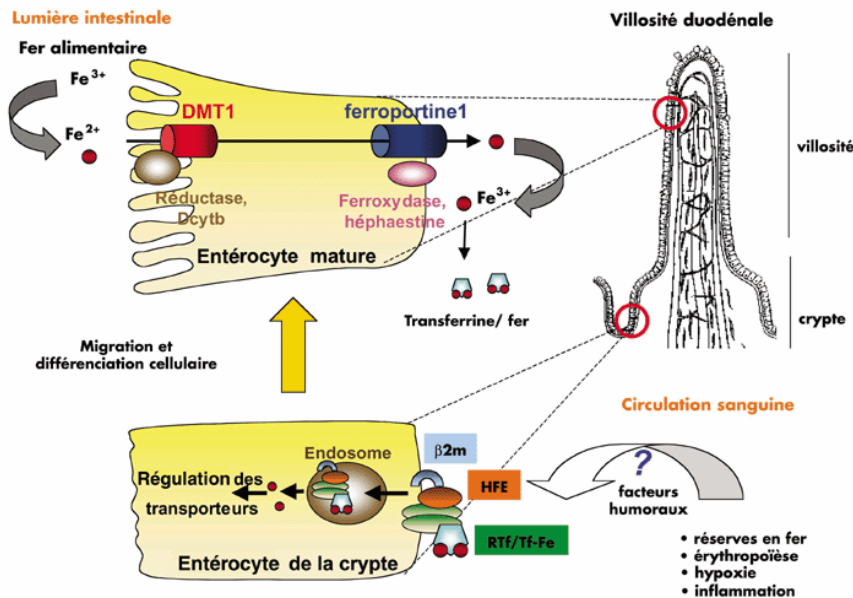
*Photosensitivity, red urine,
Gene (UROS)
(GATA-1)
hirsutisme apres naissance
phenotype hémato
type
beta thalassemie
intermediaire
Hb F élevée et
thrombopeniee*

Anémie par déficit en fer: forme génétique: DMT1

Physio path : 2/3 fer hémique , 1/3 non hémique absorption OK mais Transfert et utilisation du fer perturbée

Anémie associé à surcharge en fer Autosomique R

Anémie très microcytaire présente des la naissance (un cas 20 ans) VGM 50 , fer serique élevé et ferritine haute , IRM+, perls neg; EPO



Anémie par déficit en fer: forme génétique: TMPRSS6, IRIDA

- *Physio path : mutation gene Tmprss6 : trans membran-bound serine protease 6 qui code pour matripase (suppresseur gene expression hepcidine)*
- *Hepcidine inapproprié élevée malgré anémie et carence en fer*
- *Autosomique R*

Anémie très microcytaire possible dès la naissance

VGM 50 , fer sérique bas et ferritine effondrée, hepcidine normale ou haute

COMME ANEMIE FERRIPRIVE MAIS NE REPOND PAS AU TRAITEMENT

Tt fer IV fer oral inefficace

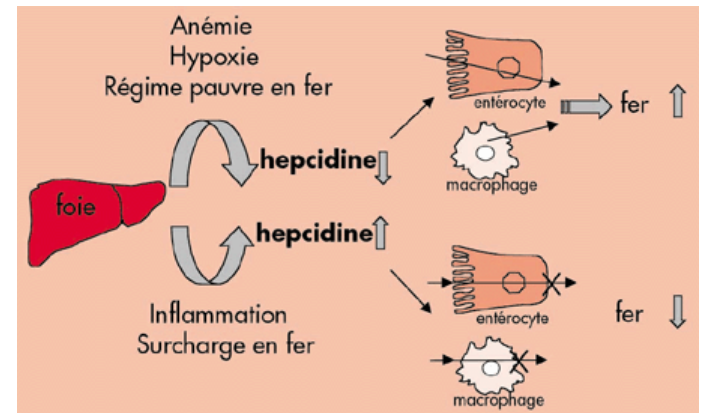


Table 1. Classification of inherited microcytosis due to defects in iron metabolism or heme synthesis

Disease	(human diseases and animal models)	Animal models
Heme synthesis		
<i>Sideroblastic anemias</i>		
X-linked sideroblastic anemia (XLSA)	Aminolevulinic acid synthase type II (<i>ALAS2</i>)	Microcytic anemia and iron overload <i>Sauternes (sau)</i> zebrafish
X-linked sideroblastic anemia with ataxia (XLSA/A)	Adenosine triphosphate-binding cassette protein (<i>ABCB7</i>)	Predominantly truncal, spinocerebellar ataxia, accompanied by severe, selective cerebellar hypoplasia
Sideroblastic-like microcytic anemia	Glutaredoxin 5 (<i>GLRX5</i>)	Hypochromic microcytic anemia, hepatosplenomegaly, and iron overload <i>Shiraz</i> zebrafish
<i>Erythropoietic porphyria</i>		
Erythropoietic protoporphyria (EPP)	Ferrochelatase (<i>FECH</i>)	Photosensitivity, and occasionally, acute hepatic failure, and microcytic anemia (20-60% of patients)
Congenital erythropoietic porphyria (CEP)	Uroporphyrinogen III synthase (<i>UROS</i>) GATA binding protein 1 (<i>GATA-1</i>)	Photosensitivity, red urine, a and hirsutism soon after birth Hematologic phenotype of β -thalassemia intermedia, markedly elevated Hb F levels, and thrombocytopenia <i>Urosmut^{cep}</i> knock-in mouse
Iron metabolism deficiency		
Iron deficiency anemia	Divalent metal transporter (<i>DMT1</i> ; also <i>NRAMP2</i> , <i>DCT1</i>)	Microcytic hypochromic anemia and iron overload <i>mk</i> (mice), <i>b</i> (rats), and <i>chardonnay (cdy)</i> zebrafish
?	Duodenal cytochrome b (<i>DCYTB</i>)	<i>Cybrd1</i> ^{-/-} mice (not anemic, and their hematologic parameters were indistinguishable from wild-type mice)
Ferroportin disease	Ferroportin/ <i>REG1/MTP1</i>	Mild anemia has been reported in some patients with loss-of-function ferroportin mutations <i>weilsherbst (weh)</i> zebrafish (severe hypochromic anemia, poor viability)
?	Hephaestin (Hp)	Sex-linked anemia (<i>sla</i>) mice (moderate to severe microcytic hypochromic anemia)
Hereditary atransferrinemia	Transferrin (TF)	Pallor and fatigue, some patients have mild hepatomegaly, iron overload and hypochromic anemia <i>hpx</i> mice, <i>gavi^{hpx}</i> and <i>gavi^{tf}</i> zebrafish
?	Transferrin receptor 1 (TFR1)	Chianti (<i>cia</i>) zebrafish (hypochromic, microcytic anemia)
?	<i>Sec151</i>	Hemoglobin deficit (<i>hbd</i>) mice (hypochromic anemia)
?	Transmembrane epithelial antigen of the prostate 3 (<i>STEAP 3</i>)	<i>Steap3</i> ^{-/-} mice (hypochromic, microcytic anemia)
Hereditary aceruloplasminemia	Ceruloplasmin (Cp)	Hepatic iron overload, diabetes, peripheral retinal degeneration, dystonia, dementia, or dysarthria microcytic anemia, low serum iron and elevated serum ferritin <i>Cp</i> knockout (mice)
IRIDA	Type 2 transmembrane serine protease 6 (<i>TMPRSS6</i>)	Hypochromic, microcytic anemia <i>Mask</i> mice (iron deficiency and regional alopecia of truncal hair)

Table 2. Biological characteristics of human inherited microcytosis due to defects in iron metabolism or heme synthesis

	XLSA	XLSA-A	GLRX5 def	EPP	DMT1 def.	aTrans-ferrinemia	Acerulo-plasminemia	TMPRSS6 Def (IRIDA)
MCV (fL) (n=80-85)	60-75	60-75	55-70	60-75	45-55	50-60	60-75	49-60
Serum Fe	N or +	N or +	N	+	++	+	N	low
TFRsat.	+	+	+	+	++	+	+	low
sTFR	+	+	+	+	++	N	N	+
Sideroblasts	+++	++	+	no	no	no	no	no
PPIX	N or -	N or -	N	+++	+	N	N	
Liver iron	++	++	++	+	+++	+++	++	N
Neonatal appearance	no	no	no	yes	yes	yes	yes-no	no
Oral Fe effect	-	-	-	-	no	no	+	Refractory
IV iron effect	-	-	-	-	no	no	+	+/-
Transmission	X-linked	X-linked	AR	D/R	AR	AR	AR or AD	AR
Proposed therapy	vitB6	vitB6	chelation	B-carot	Epo	Plasma or apo-Tf	chelation	

N: normal value; +: increased; -: decreased values.

CAT pratique devant Anémie microcytaire

1. Historique : hémogramme antérieur évolution VGM++++++, ethnie

*2. Profondeur de la microcytose et de l'anémie
et leur corrélation , le nombre de globule rouge*

*3. Anomalies cytologiques associées: hématies cibles, ponctuées,
anisocytose*

1. Bilan biologique débrouillage (par étape)

1 Ferritine, CRP, fibrinogène

*2 Sidéremie ,CSS, CTF, électrophorèse de l'hémoglobine,
bilan hémolyse, réticulocyte, dosage protéique de la transferrine*

3 Myélogramme et Perls

4 Examens très spécialisés (IRM hep ,genetique Mb fer, heme, Hb