



Les déficits enzymatiques érythrocytaires

*Pr Issam FRIGAA
CHU Mustapha-Alger*



Introduction

Le GR est une cellule anucléée, incapable de toute synthèse, qui hérite d'un capital enzymatique assurant son métabolisme

Ces enzymes permettent le maintien de l'intégrité de la membrane, la structure et la fonction

Les enzymopathies affectent le métabolisme cellulaire du GR

- la glycolyse anaérobie
- le shunt de l'hexose monophosphate
- le métabolisme du glutathion
- le métabolisme des nucléotides



Introduction

- Les enzymopathies sont souvent associées à une anémie hémolytique N.N
- Absence d'anomalies morphologiques spécifiques.
- Le diagnostic est basé sur la détection d'une activité enzymatique spécifique réduite et la caractérisation moléculaire du défaut au niveau de l'ADN.
- Les troubles enzymatiques les plus courants sont les déficits en glucose-6-phosphate déshydrogénase (**G6PD**) et en pyruvate kinase (**PK**).
- Cependant, il existe un certain nombre d'autres troubles enzymatiques **rare**s, souvent beaucoup moins connus



Classification des Enzymopathies érythrocytaires rares :

1. Anémie hémolytique non sphérocytaire par déficit en **hexokinase** Gène *HK1*
2. Anémie hémolytique due à un déficit en **phosphoglucose isomérase** Gène *GPI*
3. Glycogénose par déficit en **phosphofructokinase** musculaire Gène *PFKM*
4. Glycogénose par déficit en **aldolase A** musculaire Gène *ALDOA*



Classification des Enzymopathies érythrocytaires rares:

5. Déficit en **triose-phosphate isomérase** *Gène TPI1*
6. Anémie hémolytique due à un déficit en **adénylate-kinase** *Gène AK1*
7. Glycogénose par déficit en **phosphoglycérate kinase 1** *Gène PGK1*
8. Anémie hémolytique due à un déficit en **pyrimidine 5'-nucléotidase** *Gène NT5C3A*



Problématiques et enjeux

- Epidémiologiques
- Diagnostiques
- Techniques et organisationnels
- Cliniques
- Thérapeutiques
- Pharmacologiques et pharmacogénétiques
- Approvisionnement quantitatif et qualitatif des CGR dans le ETS
- Biotechnologiques
- Ethiques



Le Déficit en G6PD

- Caractérisée par la survenue **d'hémolyse suite à un stress oxydatif** souvent dû à l'ingestion des fèves, aux infections, a des produits environnementaux ou industriels , et a de nombreux médicaments
- Le gène *G6PD* est localisé sur le chromosome X.
- Le transcrit comporte 13 exons et 515 acides aminés.
- La quasi-totalité des anomalies décrites sur ce gène sont des mutations ponctuelles faux-sens ou non sens,
- Plus de 150 variants.
- Les délétions étant extrêmement rares.



Le Déficit en G6PD

- La G6PD est la seule source du NADPH « coenzyme de la glutathion réductase » nécessaire pour la détoxification des peroxydes.
- Les hématies déficientes en G6PD sont incapables en cas d'agression oxydante de fournir la quantité nécessaire de NADPH pour éliminer le surplus de peroxydes.
- Elles sont responsables de :
 - La dénaturation par oxydation de protéines du stroma et de la globine.*
 - La précipitation de l'Hb sous forme de corps de Heinz dans les GR.*
 - La rigidité membranaire → élimination par la rate.*
- Les variants déficitaires de la G6PD qui en résultent ont été catégorisés en 3 classes par l'OMS en fonction de leur activité résiduelle



L'OMS (L'Organisation Mondiale de la Santé) a établie une classification des différentes variantes de la G6PD selon leur **activité enzymatique** , en 5 catégories présentées dans le tableau suivant :

Classes	Activité enzymatique	Intensité de déficit	Exemple de Variant	Expression clinique	Mutation
I	1-2%	Sévère	Rares Pas de spécificité de population <i>Variant Guadalajara, Beverly Hills, Nashville</i>	anémie hémolytique chronique non sphérocytaire. Ictère Néonatale	Mutations rares touchent la stabilité + fonction de l'enzyme
II	<10 %	Sévère	Variant Méditerranéen (Med) ou B-	Hémolyse intermédiaire	
III	10 et 60 %.	Déficits modérés	Variant A-	Hémolyse suite a un stress oxydatif	
IV	60 à 150 %	Pas de déficit	Variant B, variant A	-	
V	>150%	-	Non rapporté	-	

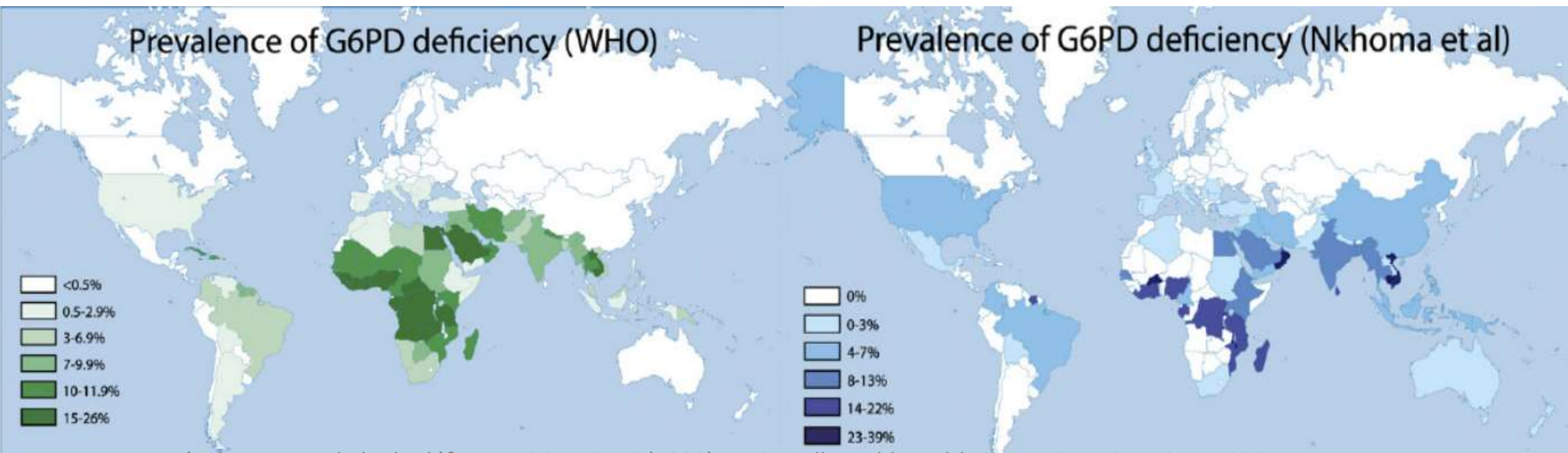


Epidémiologie du Déficit en G6PD

- Prévalence mondiale : 7,5 % (environ 400 millions)

Très répandu en Moyen-Orient: 62 % des Kurdes Juifs et 24 % des Bahreïniens.

25 % en Afrique subsaharienne, Asie de Sud-Est et au bassin méditerranéen.



Prévalence mondiale du déficit en G6PD OMS (1989) WHO. *Bull World Health Organ* 67 : 601 – 611, 1989.

Prévalence mondiale du déficit en G6PD selon Nkhoma et al. (2009). *Nkhoma et al. Blood Cells Mol Dis* 42:267 – 278, 2009



Original Investigations | [Published: January 1978](#)

Heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Algeria

Study in [Northern Algeria with description of five new variants](#)

[M. Benabadji](#), [F. Merad](#), [M. Benmoussa](#), [G. Trabuchet](#), [C. Junien](#), [J. C. Dreyfus](#) & [J. C. Kaplan](#)

Human Genetics **40**, 177–184 (1978) | [Cite this article](#)

Summary

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency was found [in 3.2% of the male](#) population living in the urban area of Algiers. The deficient subjects originated from multiple geographic regions of Northern Algeria, with prevalence of individuals of Berber-Kabyle origin. Red blood cell G6PD was partially purified and characterized in deficient males from 17 families, and six different variants were found. Among them, only one, the Gd(-) Kabyle variant, had been previously described. It was detected in nine families. The other five variants were new: Gd(-) Laghouat (four cases), Gd(-) Blida (one case), Gd(-) Thenia (one case), Gd(-) Titteri (one case), and Gd(-) Alger (two brothers), Strikingly, the common Mediterranean variant was not found. G6PD deficiency is heterogeneous in northern Algeria where autochthonous variants seem to prevail. The Kabyle variant may be common in this country.



Epidémiologie du Déficit en G6PD

- L'Algérie se trouve entre 2 régions bien distinctes :
 - le bassin méditerranéen ou le déficit est très fréquent (variant méditerranéen)
 - l'Afrique subsaharienne (variant A).
- Il existe un gradient dans la fréquence du déficit du nord au sud du pays, ou la fréquence du déficit est estimée à **$5,10 \pm 0,39$** , avec des taux élevés au sud du pays (**7,73%**) et en Kabylie (**5,86%**)

At least five polymorphic mutants account for the prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Algeria

K Nafa ¹, A Reghis, N Osmani, L Baghli, H Aït-Abbes, M Benabadji, J C Kaplan, T Vulliamy, L Luzzatto

Affiliations

Affiliation

¹ Centre de Transfusion Sanguine, CHU Mustapha, Alger, Algeria.

Abstract

The electrophoretic mobility and level of enzyme activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) was established in 100 unrelated Algerian males with G6PD deficiency. DNA from these subjects was analysed for the presence of certain known G6PD mutations by the appropriate restriction enzyme digestion of fragments amplified by the polymerase chain reaction. Where the mutation could not be identified in this way, the samples were subjected to single-strand conformation polymorphism analysis and abnormal fragments were sequenced. In this way, eight different mutations have been identified, of which five are polymorphic and account for 92% of the samples. The most common variants are G6PD A- (46%) and G6PD Mediterranean (23%), both of which were associated with favism. A new polymorphic variant, G6PD Aures, has been identified during the course of this study, whereas another, G6PD Santamaria, has now been established as a polymorphic variant (11%). Thus, G6PD deficiency in Algeria is heterogeneous, suggesting that there has been significant gene flow, both from sub-Saharan Africa and from other parts of the Mediterranean.



Principales études en Algérie sur le déficit G6PD

- Messerschmitt, S., Suaudeau, C., Benallègue, A., Venezia, R., Fabre, S., Bon, J., André, L., Khati, B., Dubois, M., Benabdallah, S., Kotchoyan, P. : Défaut en G6PD et anémies hémolytiques en Algérie. *Nouv. Rév. Hématol.* 7 , 827–840 (**1967**)
- Suaudeau, C. : Le défaut en glucose-6-phosphate déshydrogénase. Revue de la littérature et étude en Algérie centrale. Thèse Faculté de Médecine, Marseille **1965**
- Richard, F., Belhani, M., Colonna, P. : Le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase érythrocytaire chez le nouveau-né à Alger. *Nouv. Rév. Hématol.* 14 , 453–460 **1974**
- Benabadji M, Benlatche C, Merad F, Suaudeau C, Benmoussa M, Kornprobst G, Cladel G [Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Algeria]. *Sem Hop.* **1977** Apr 23;53(16):899-904
- Nafa K, Reghis A, Osmani N, Baghli L, Aït-Abbes H, Benabadji M, Kaplan JC, Vulliamy T, Luzzatto L. Hum At least five polymorphic mutants account for the prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Algeria. *Genet.* **1994** Nov;94(5):513-7. doi: 10.1007/BF00211017.PMID: 7959686

G6PD Aures: a new mutation (48 Ile → Thr) causing mild G6PD deficiency is associated with favism

Khedoudja Nafa, Abderrezak Reghis, Naima Osmani, Lamia Baghli, Mohamed Benabadji, Jean-Claude Kaplan¹, Thomas J.Vulliamy^{2,*} and Lucio Luzzatto²

Centre de Transfusion Sanguine, CHU Mustapha, Alger, Algeria, ¹ICGM, Institut de Pathologie Moléculaire, INSERM U.129, CHU Cochin F75014, Paris, France and ²Department of Haematology, Royal Postgraduate Medical School, Hammersmith Hospital, London, UK

Received September 21, 1992; Revised and Accepted November 20, 1992

INTRODUCTION

Deficiency of the housekeeping enzyme glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) is estimated to affect upwards of 400 million people worldwide. While the majority of these individuals are asymptomatic at most times, they may develop acute haemolytic anaemia in association with infection or following the ingestion of certain drugs or broad beans (1). This manifestation, called favism, is often said to be associated with severe G6PD deficiency (e.g., G6PD Mediterranean), but it is now clear that this is not correct, as it occurs also with milder G6PD deficiency, for instance with G6PD A- (2). Here we report a new mutation in the G6PD gene, discovered during a survey of the molecular basis of G6PD deficiency in Algeria. This mutation is responsible for a mild deficient phenotype (7-10% of G6PD residual activity), but it too is associated with favism.

SUBJECTS AND METHODS

A boy presented to hospital with acute haemolytic anaemia. G6PD assay, electrophoresis and biochemical characterization were performed according to WHO recommendations (3). DNA was extracted by standard methods (4); the coding regions of the G6PD gene were amplified by PCR as described elsewhere (5) except that a trace of ³²PdCTP was included as a label. SSCP gels were run as described by Orita (6). Sequencing of amplified DNA cloned into M13 was carried out using a Sequenase kit.

RESULTS

The G6PD activity in the patient's red cells was about 7% of normal (G6PD B). The biochemical characterization of the patient's G6PD revealed normal electrophoretic mobility and K_m^{G6P} , high activity with substrate analogues, normal heat stability and pH-dependance curve (Table 1).

The patient's G6PD was unlikely to be Mediterranean on account of its activity and K_m^{G6P} ; and it could not be A- on account of its electrophoretic mobility. However, because both of these variants are found in Algeria, the G6PD gene of the patient was tested for the presence of the respective mutations (G6PD Mediterranean: 563 C → T; and G6PD A-: 202 G → A and 376 A → G). Since these were not found, we next subjected all exons to SSCP analysis. All fragments had a normal mobility except for two fragments, one containing exons 3 and 4 (Figure 1) and the other containing exon 11 (not shown). The shift in



Figure 1. SSCP analysis of PCR-amplified DNA fragments containing exons 3 and 4 of the G6PD gene. Lane 1, normal control, lanes 2 and 3, G6PD Aures. Lanes 4, 5 and 6 contain G6PD variants whose sequence is normal in exons 3 and 4.

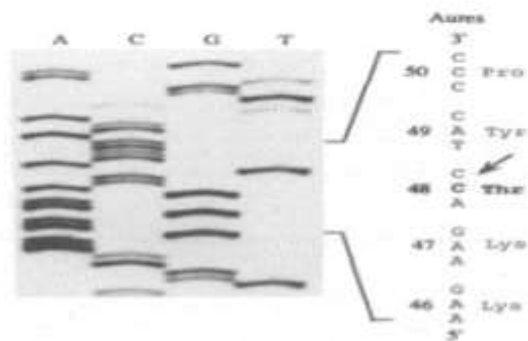


Figure 2. Partial DNA sequence of exon 3 of the G6PD gene showing the Aures mutation, and the encoded amino acids.

*To whom correspondence should be addressed at: Department of Haematology, RPHS, Hammersmith Hospital, Duane Road, London W12 0NN, UK

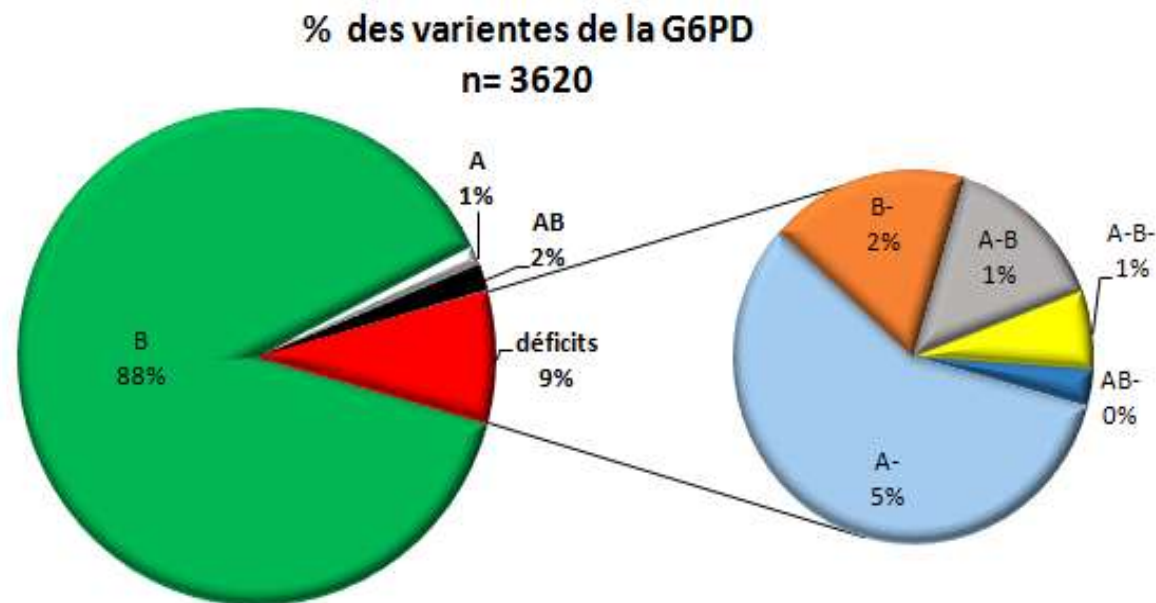


Prévalence globale des variantes de la G6PD au CTS CHU Mustapha (2019)

N= 3620

variantes	nombre
B	3200
A	47
AB	61
A-	179
B-	56
A-B	46
A-B-	21
AB-	10

TOTAL A/B/AB	3308
TOTAL DEFICITS	312
TOTAL	3620

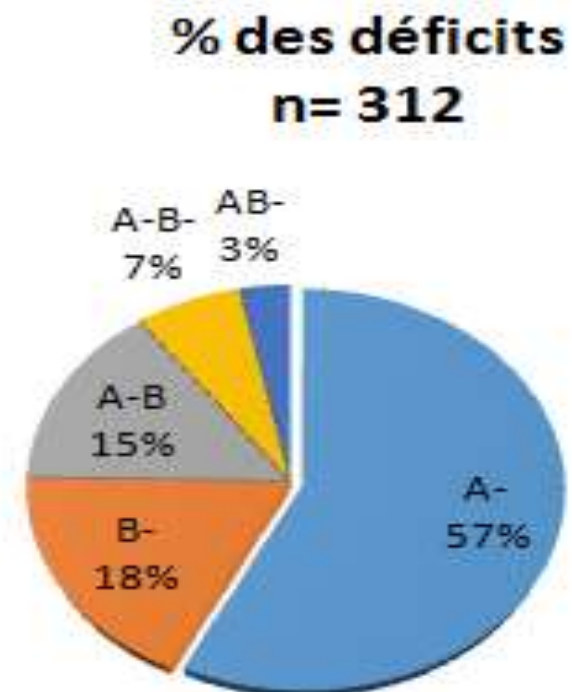




Prévalence des déficits en G6PD au CTS CHU Mustapha(2019)

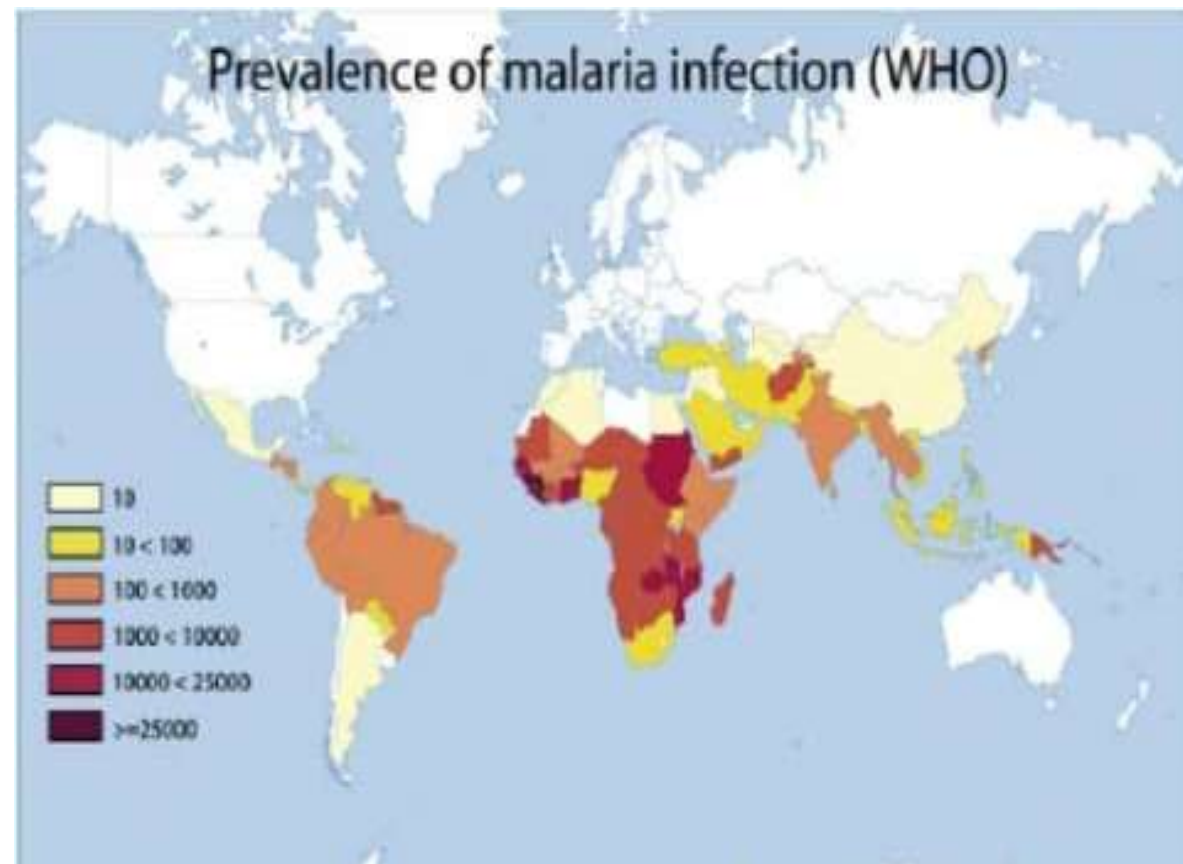
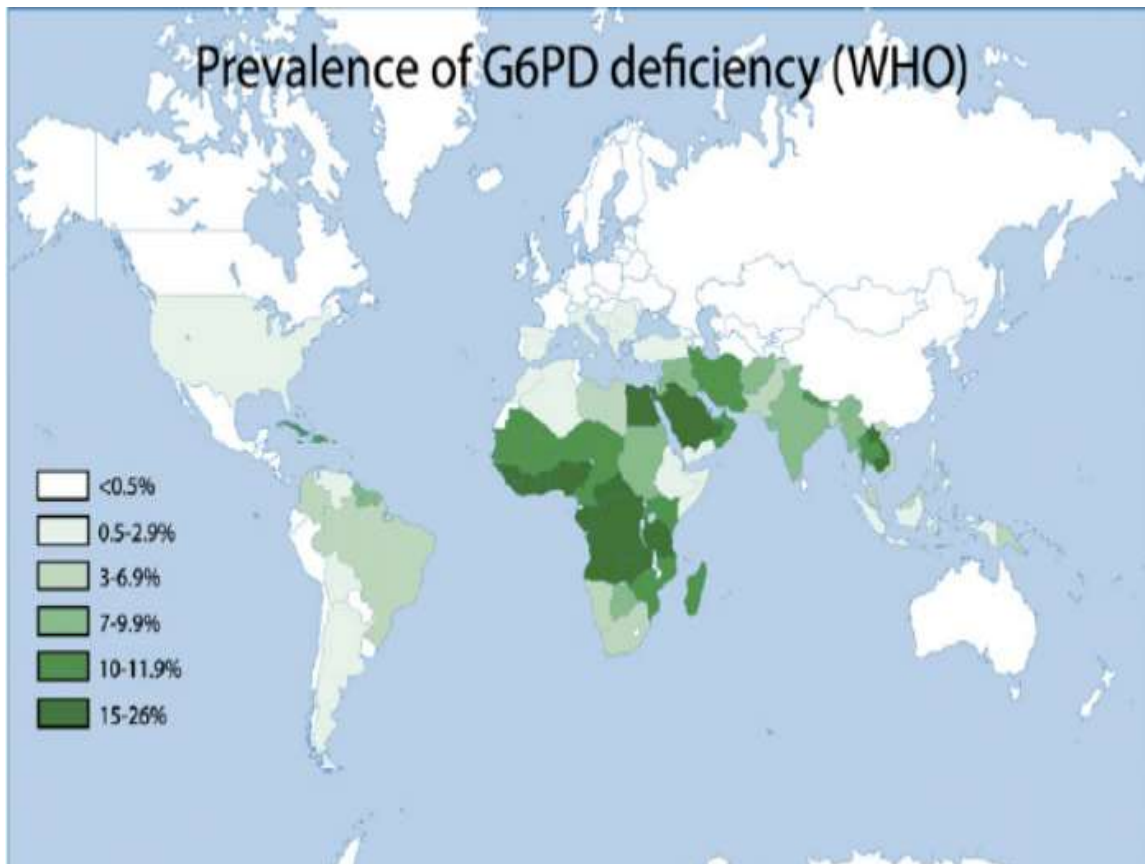
variantes	nombre
B	3200
A	47
AB	61
A-	179
B-	56
A-B	46
A-B-	21
AB-	10

TOTAL A/B/AB	3308
TOTAL DEFICITS	312
TOTAL	3620





Déficit en G6PD et Malaria : Répartition

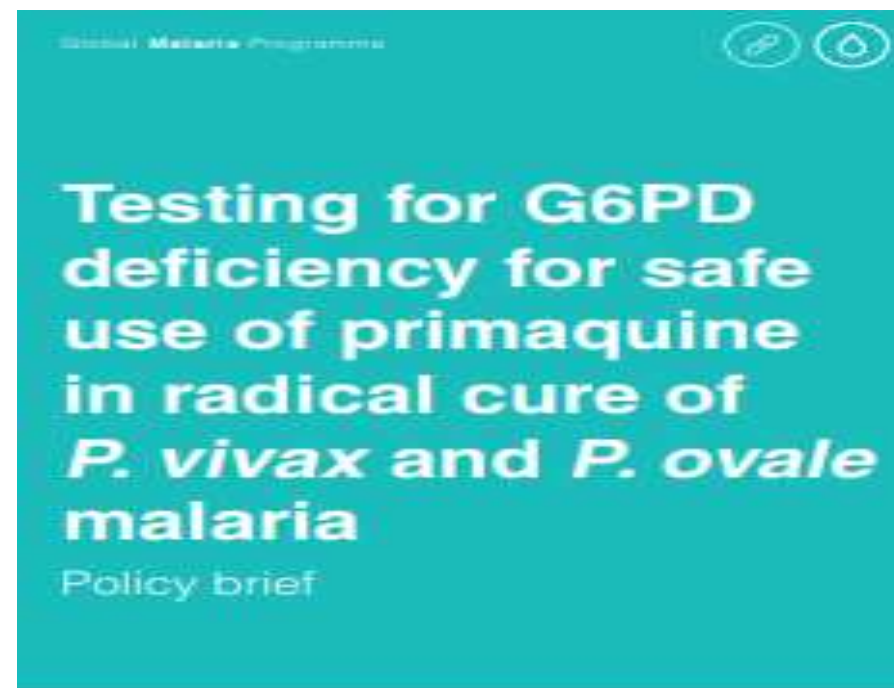


Prévalence mondiale du paludisme, exprimée en nombre d'infections pour 100 000 habitants, selon OMS(2009)



Recommandations de l'OMS pour le test G6PD

Background	1
WHO recommendation	2
Expected benefits	2
Primaquine and G6PD deficiency	3
Point-of-care testing for G6PD deficiency in males and females	6
Algorithm for qualitative testing for G6PD deficiency at points of care and safe administration of primaquine to prevent relapse of <i>P. vivax</i> and <i>P. ovale</i> malaria in male and female patients	7
Treatment options for male and female patients according to their G6PD status	8
Dosage, administration and sourcing of quality-assured primaquine	10
Patient counselling and detection of primaquine-induced haemolysis	11
Management of side-effects	12
Risk-benefit assessment for safe administration of primaquine when G6PD deficiency testing is not available	12
Considerations in implementing the new recommendations	14
Quantitative and qualitative G6PD testing methods and preferred product characteristics of point-of-care G6PD tests	14
Introducing or extending a G6PD testing system at country level	16
Further research	18
References	18
Annex. Characteristics of qualitative G6PD tests	20



Genotype-phenotype association and biochemical analyses of glucose-6-phosphate dehydrogenase variants: Implications for the hemolytic risk of using 8-aminoquinolines for radical cure

[Sirapapha Sudsumrit](#),¹ [Kamonwan Chamchoy](#),² [Duantida Songdej](#),³ [Poom Adisakwattana](#),⁴ [Srivicha Krudsood](#),⁵ [Emily R. Adams](#),⁶ [Mallika Imwong](#),¹ [Ubolsree Leartsakulpanich](#),⁷ and [Usa Boonyuen](#)^{1,*}

- Entre octobre 2021 et juin 2022, la Thaïlande a signalé 4 764 cas de paludisme. Il y a eu 3 610 cas de paludisme dans la région occidentale, représentant 76 % de tous les cas,
- *P. vivax* était l'espèce causale avec un taux d'incidence de 97 %
- Dans l'ouest de la Thaïlande, jusqu'à 22% des personnes peuvent ne pas être éligibles à une cure radicale.
- La prévalence du déficit en G6PD était de 6,76 % (76/1 125), évaluée par un test phénotypique.

Genotype-phenotype association and biochemical analyses of glucose-6-phosphate dehydrogenase variants: Implications for the hemolytic risk of using 8-aminoquinolines for radical cure

[Sirapapha Sudsumrit](#),¹ [Kamonwan Chamchoy](#),² [Duantida Songdej](#),³ [Poom Adisakwattana](#),⁴ [Srivicha Krudsood](#),⁵ [Emily R. Adams](#),⁶ [Mallika Imwong](#),¹ [Ubolsree Leartsakulpanich](#),⁷ and [Usa Boonyuen](#)^{✉1,*}

- Les tests HRM multiplexés ont révélé du G6PD Mahidol chez 15,04 % (77/512) des hommes et 28,38 % (174/613) des femmes, ainsi que du G6PD Aures chez une femme.
- Les tests qualitatifs de routine peuvent être insuffisants pour le test G6PD, des tests quantitatifs doivent donc être mis en œuvre.
- Le génotypage G6PD doit également être utilisé pour confirmer le statut G6PD, en particulier chez les femmes suspectées d'avoir un déficit en G6PD.
- Les personnes présentant des mutations doubles de la G6PD sont plus susceptibles d'avoir une hémolyse que celles présentant des mutations simples de la G6PD, car les doubles mutations réduisent considérablement l'activité catalytique ainsi que la stabilité structurelle de la protéine.



Donor glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency decreases blood quality for transfusion

Richard O. Francis,¹ Angelo D'Alessandro,² Andrew Eisenberger,³ Mark Soffing,⁴ Randy Yeh,⁴ Esther Coronel,⁴ Arif Sheikh,⁵ Francesca Rapido,⁶ Francesca La Carpia,¹ Julie A. Reisz,² Sarah Gehrke,² Travis Nemkov,² Tiffany Thomas,¹ Joseph Schwartz,¹ Chaitanya Divgi,⁴ Debra Kessler,⁷ Beth H. Shaz,⁷ Yelena Ginzburg,⁸ James C. Zimring,⁹ Steven L. Spitalnik,¹ and Eldad A. Hod¹

¹Department of Pathology and Cell Biology, Columbia University Vagelos College of Physicians and Surgeons and NewYork-Presbyterian Hospital, New York, New York, USA. ²University of Colorado

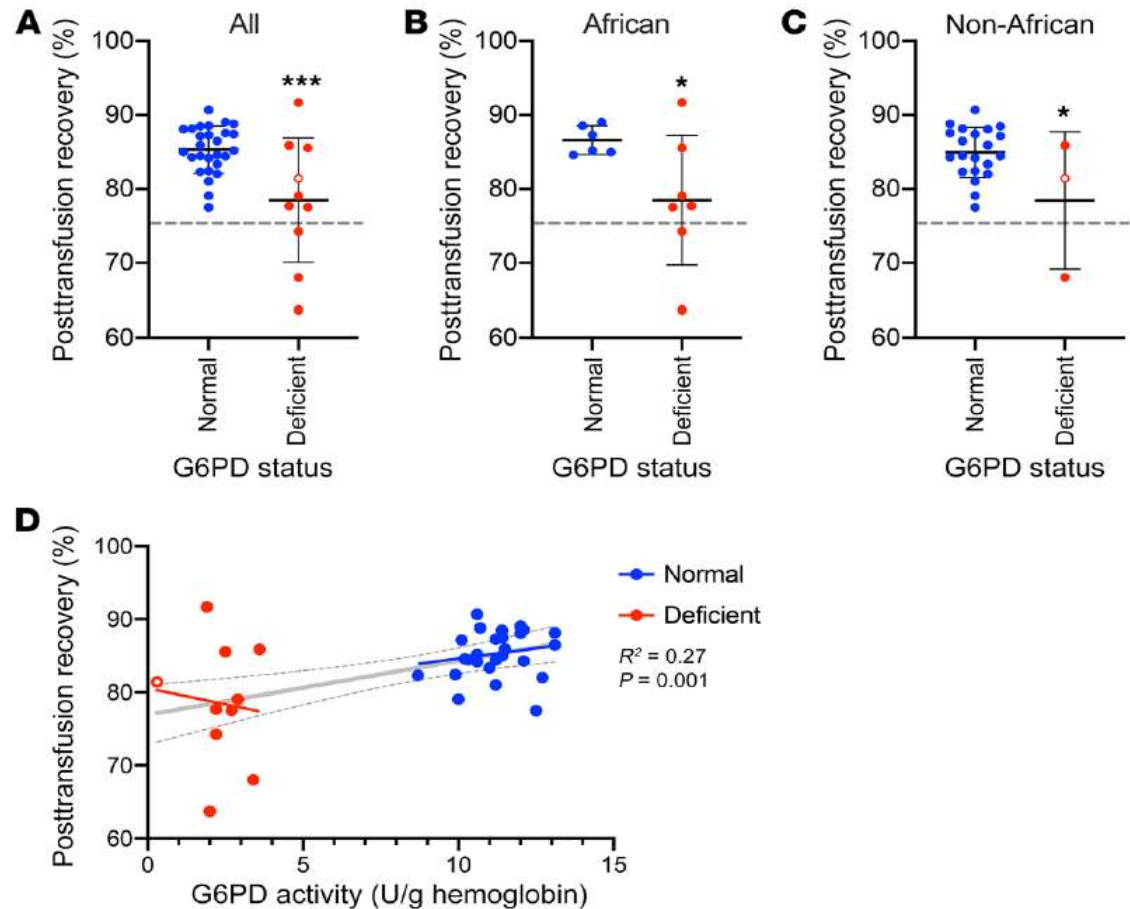
METHODS. Male volunteers were screened for G6PD deficiency; 27 control and 10 G6PD-deficient volunteers each donated 1 RBC unit. After 42 days of refrigerated storage, autologous 51-chromium 24-hour posttransfusion RBC recovery (PTR) studies were performed. Metabolomics analyses of these RBC units were also performed.

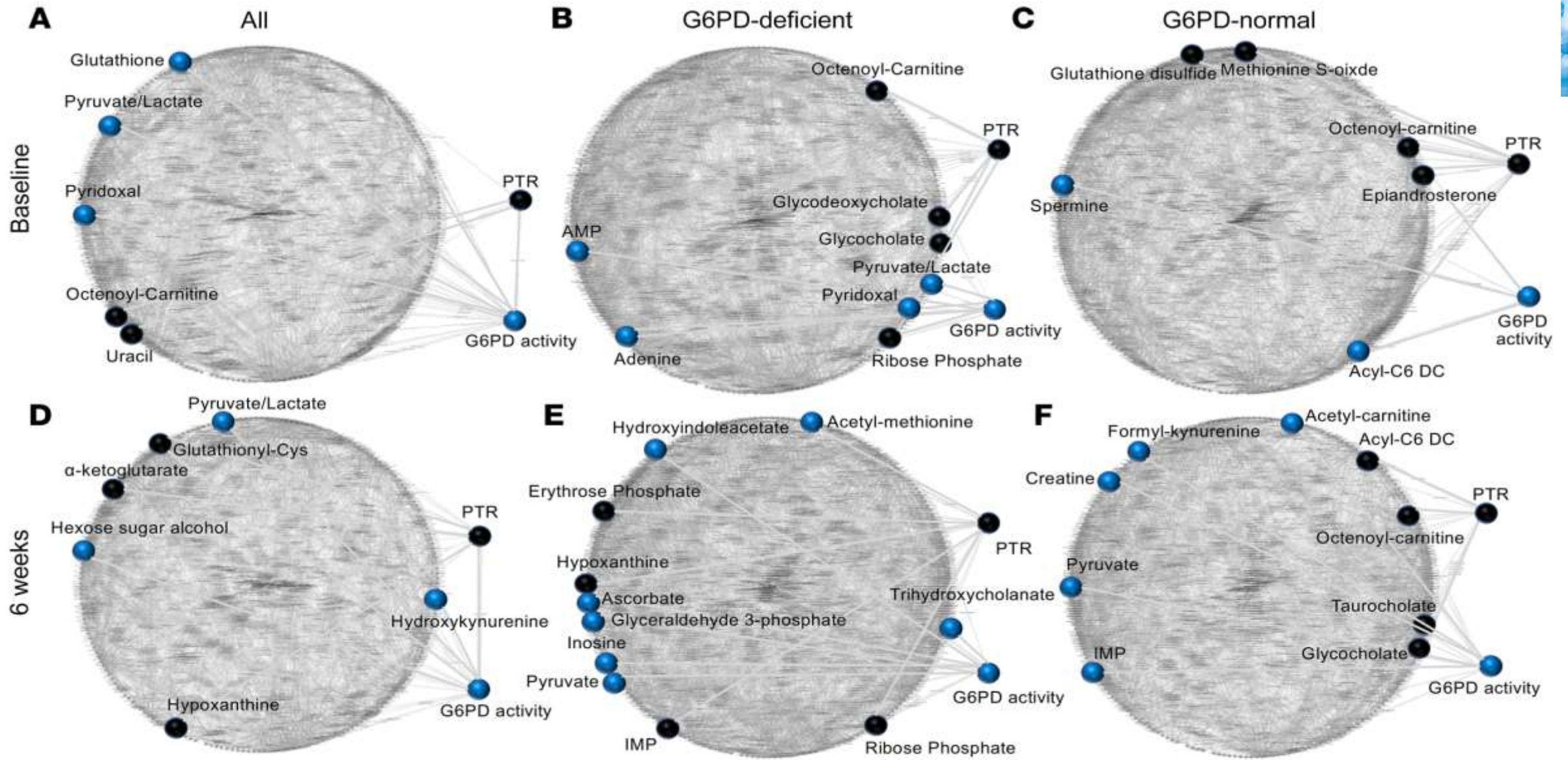
RESULTS. The mean 24-hour PTR for G6PD-deficient subjects was 78.5% ± 8.4% (mean ± SD), which was significantly lower than that for G6PD-normal RBCs (85.3% ± 3.2%; $P = 0.0009$). None of the G6PD-normal volunteers (0/27) and 3 G6PD-deficient volunteers (3/10) had PTR results below 75%, a key FDA acceptability criterion for stored donor RBCs. As expected, fresh G6PD-deficient RBCs demonstrated defects in the oxidative phase of the pentose phosphate pathway. During refrigerated storage, G6PD-deficient RBCs demonstrated increased glycolysis, impaired glutathione homeostasis, and increased purine oxidation, as compared with G6PD-normal RBCs. In addition, there were significant correlations between PTR and specific metabolites in these pathways.

Donor glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency decreases blood quality for transfusion

Richard O. Francis,¹ Angelo D'Alessandro,² Andrew Eisenberger,³ Mark Soffing,⁴ Randy Yeh,⁴ Esther Coronel,⁴ Arif Sheikh,⁵ Francesca Rapido,⁶ Francesca La Carpia,¹ Julie A. Reisz,² Sarah Gehrke,² Travis Nemkov,² Tiffany Thomas,¹ Joseph Schwartz,¹ Chaitanya Divgi,⁴ Debra Kessler,⁷ Beth H. Shaz,⁷ Yelena Ginzburg,⁸ James C. Zimring,⁹ Steven L. Spitalnik,¹ and Eldad A. Hod¹

¹Department of Pathology and Cell Biology, Columbia University Vagelos College of Physicians and Surgeons and NewYork-Presbyterian Hospital, New York, New York, USA. ²University of Colorado





Clarified extraction supernatants were analyzed by ultra-high-pressure liquid chromatography coupled online to high-resolution mass spectrometry (UHPLC-MS) using a Thermo Vanquish UHPLC coupled to a Thermo Q Exactive MS



2 - Déficit en pyruvate kinase :

- Il existe 4 isoenzymes : L, R, M1, M2.
- L'isoenzyme érythrocytaire est PK-R, elle est produite par le gène *PK-LR* localisé sur le chromosome 1 en position q21.
- une revue d'environ 250 mutations publiées et six polymorphismes dans le gène PK-LR avec les données cliniques et moléculaires correspondantes.
- ↘ de son affinité pour le substrat.
- instabilité thermique.
- Réponse défectueuse aux activateurs ou synthèse quantitativement diminuée.



2 - Déficit en pyruvate kinase :

- A l'état hétérozygote, l'activité enzymatique est réduite de moitié mais le déficit est bien toléré.
- Le diagnostic du déficit en PK devrait être toujours précédé par des dosages d'activités à la différence des autres déficits enzymatiques du GR.
- Chez les nouveaux-nés et jeunes enfants qui sont souvent très réticulocytaires , le dosage des parents est primordial en cas de suspicion de déficit biochimique en PK



NGS dans le diagnostic des PK D

Table 1. Recent studies performed by next-generation sequencing technologies in patients with hemolytic anemias.

Reference	Method	N. of genes analyzed	N. of cases studied with CHA	PKD diagnosis	New diagnosis and number and type of mismatched diagnoses
15	t-NGS	35	36	2	2 new PKD
28	t-NGS	55	43	8	8 new PKD
29	WES	n.a.	4	4	4 new PKD
30	t-NGS	76	21 ^a	6	3 new PKD 2 CDA → PKD 1 DBA → PKD
27	t-NGS	76	21 ^b	6	4 new PKD 2 CDA → PKD
25	t-NGS	34 and 71	74 ^c	7	7 CDA → PKD
23	t-NGS	33	57	3	2 new PKD 1 CDA → PKD

Number of genes included in the panel, number of cases analyzed in each study and cases diagnosed with pyruvate kinase deficiency are shown. Next-generation sequencing analysis allowed modification of a previous diagnosis; the number and the type of mismatched diagnosis is reported in the last column. ^aAll transfusion-dependent patients. ^bNo diagnosis despite extensive laboratory investigations. ^cSuspected diagnosis of congenital dyserythropoietic anemia. CHA: chronic hemolytic anemias; PKD: pyruvate kinase deficiency; t-NGS: targeted next-generation sequencing; WES: whole-exome sequencing; n.a.: not available; CDA: congenital dyserythropoietic anemia; DBA: Diamond-Blackfan anemia.



Specifications NGS - panel RBC enzyme deficiency

RBC Enzym AmpliSeq Panel v5 -22 genes 327 amplicons couvrent 99.48%

Table 1: List of submitted genes and the coverage of the designed panel:

Gene	Chromosome	NCBI Transcript	Exons	Coverage	Coverage 5' of initiation site (flanking sequence and 5'UTR)	Amplicons
ABCB7	chrX	NM_004299.4	16	100,00%	-22 relative to initiation codon	24
AK1	chr9	NM_000476.2	6	100,00%	-87 relative to initiation codon	9
ALAS2	chrX	NM_000032.4	11	100,00%	-240 relative to transcription initiation site	19
ALDOA	chr16	NM_001243177.1	10	100,00%	-8 relative to initiation codon	12
CYB5R3	chr22	NM_001171660.1	9	97.25%	-189 relative to initiation codon	12
ENO1	chr1	NM_001428.	12	100,00%	-119 relative to initiation codon	12
G6PD	chrX	NM_000402.4	13	100,00%	-176 relative to initiation codon	19
GAPDH	chr12	NM_002046.5	9	77.48%	-36 relative to initiation codon	8
GCLC	chr6	NM_001498.3	16	100,00%	-713 relative to initiation codon	22
GPI	chr19	NM_000175.3	18	100,00%	-79 relative to initiation codon	22
GSR	chr8	NM_000637.3	13	98.94%	-115 relative to initiation codon	15
GSS	chr20	NM_000178.2	13	100,00%	-151 relative to initiation codon	15
HK1	chr10	NM_033497.2	22	100,00%	-157 relative to initiation codon	27
NT5C3A	chr7	NM_001002010.2	9	100,00%	-60 relative to initiation codon	13
PFKM	chr12	NM_001166686.1	25	100,00%	-129 relative to initiation codon	22
PGD	chr1	NM_002631.2	13	98.93%	-175 relative to initiation codon	13
PGK1	chrX	NM_000291.3	11	100,00%	-75 relative to initiation codon	12
PKLR	chr1	NM_000298.5	11	100,00%	-305 relative to initiation codon	16
PRDX2	chr19	NM_005809.5	6	100,00%	-48 relative to initiation codon	5
UGT1A1	chr2	NM_000463.2	5	100,00%	-124 relative to initiation codon	11
SLC25A38	chr3	NM_017875.2	7	100,00%	-199 relative to initiation codon	10
TPI1	chr12	NM_000365.5	7	100,00%	-65 relative to initiation codon	9



Traitement du déficit en PK

- Le traitement de la PKD est principalement palliatif. Le traitement le plus prolongé est la transfusion de globules rouges
- des effets indésirables connexes, tels que l'allo-immunisation surcharge en fer
- La splénectomie n'arrête pas l'hémolyse mais peut augmenter les valeurs d'hémoglobine (Hb) jusqu'à 1–3 g/dL.
- Cependant, ce traitement comporte des risques d'infections bactériennes encapsulées et d'augmentation de la thrombose veineuse.
- De plus, environ 14 % des patients atteints de PKD splénectomisés restent dépendants de la TS après splénectomie.



Greffe des CSH dans le traitement de D PK

Table 3. Patients who have undergone hematopoietic stem cell transplantation and their genotype.

	Sex	Country	Genotype	Mutation effect	Splenectomy	Age at HCST	Year	Outcome	Structure ref	
Pt 1	M	Asia	Unknown	Unknown	Unknown	No	5 y	1996	Alive	
Pt 2	F	EU	p. [E241*; R532W]	Nonsense	Missense ¹	Yes	15	2002	Deceased	10,11
Pt 3	F	Asia	p. [K348N; R359H]	Missense ²	Missense ²	No	1 y 7 mo	2009	Alive	47
Pt 4	F	EU	p. [E241*; R488Q]	Nonsense	Missense	No	3 y	2009	Alive	
Pt 5	M	Asia	p. [R40Q; D339N]	Missense	Missense ³	No	2 y 6 mo	2009	Alive	10
Pt 6	F	EU	p. [M377fs; M377fs]	Nonsense	Nonsense	Yes	17 y	2010	Deceased	
Pt 7	F	EU	p. [G165V; R510Q]	Missense	Missense ⁴	Yes	39 y	2011	Deceased	16
Pt 8	F	EU	p. [G511E; E538*]	Missense	Nonsense	Yes	7 y	2013	Alive	
Pt 9	M	EU	p. [I494T; R559*]	Missense	Nonsense	No	6 y	2013	Deceased	
Pt 10	M	Asia	p. [V283A; I314T]	Missense	Missense ³	No	1 y 6 mo	2013	Alive	10
Pt 11	M	EU	p. [K541fs; K541fs]	Nonsense	Nonsense	Yes	10 y	2014	Deceased	
Pt 12	M	Asia	p. [D221Y; I314T]	Missense ³	Missense ³	No	9 y	2014	Alive	10,17
Pt 13	M	Asia	p. [V283A; V283A]	Missense	Missense	No	1 y 6 mo	2015	Alive	
Pt 14	M	EU	p. [D331Q; D339H]	Missense ⁵	Missense ³	Yes	41 y	2015	Alive	10,14
Pt 15	M	Asia	c. [1270-3C>A]; p. [G540*]	Nonsense	Nonsense	Yes	11 y	Unknown	Alive	
Pt 16	F	Asia	c. [1270-3C>A]; p. [G540*]	Nonsense	Nonsense	No	8 y	Unknown	Alive	
Ref 94	F	China	p. [I314T; I314T]	Missense ³	Missense ³	No	Unknown	Unknown	Alive	
Ref 95	M	Japan	p. [Pro145Hisfs; Pro145Hisfs]	Nonsense	Nonsense	Yes	32 y	Unknown	Alive	

Missense variants falling in "strategic" functional amino acid residues or associated with documented thermo-unstable variants are reported in bold. ¹Directly involved in the fructose 1,6 biphosphate activator. ²Directly involved in the substrate and cation binding sites. ³Residues directly involved in the allosteric site and catalytic center. ⁴Highly unstable. ⁵Proximity of the substrate-binding site.



Nouveau traitement déficit PK : Mitapivat

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

- Activateur de la PK
- Traitement Oral
- Approuvé par la FDA en 2022

Mitapivat versus Placebo for Pyruvate Kinase Deficiency

Hanny Al-Samkari, M.D., Frédéric Galactéros, M.D., Ph.D., Andreas Glenthøj, M.D., Jennifer A. Rothman, M.D., Oliver Andres, M.D., Rachael F. Grace, M.D., Marta Morado-Arias, M.D., D. Mark Layton, M.B., B.S., Koichi Onodera, M.D.,

N ENGL J MED 386;15 NEJM.ORG APRIL 14, 2022



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

Mitapivat vs. Placebo for Pyruvate Kinase Deficiency

PHASE 3, RANDOMIZED, CONTROLLED TRIAL



Mitapivat



(N = 40)

Placebo



(N = 40)

Sustained increase
 ≥ 1.5 g/dl in hemoglobin
 level from baseline

40%

0%

Adjusted difference, 39.3 percentage points
 95% CI, 24.1–54.6; two-sided $P < 0.001$

Average change in
 hemoglobin level

1.7 g/dl

-0.1 g/dl

Difference, 1.8 g/dl; 95% CI, 1.2–2.4; two-sided $P < 0.001$

Mitapivat increased hemoglobin level, decreased hemolysis, and improved patient-reported outcomes.

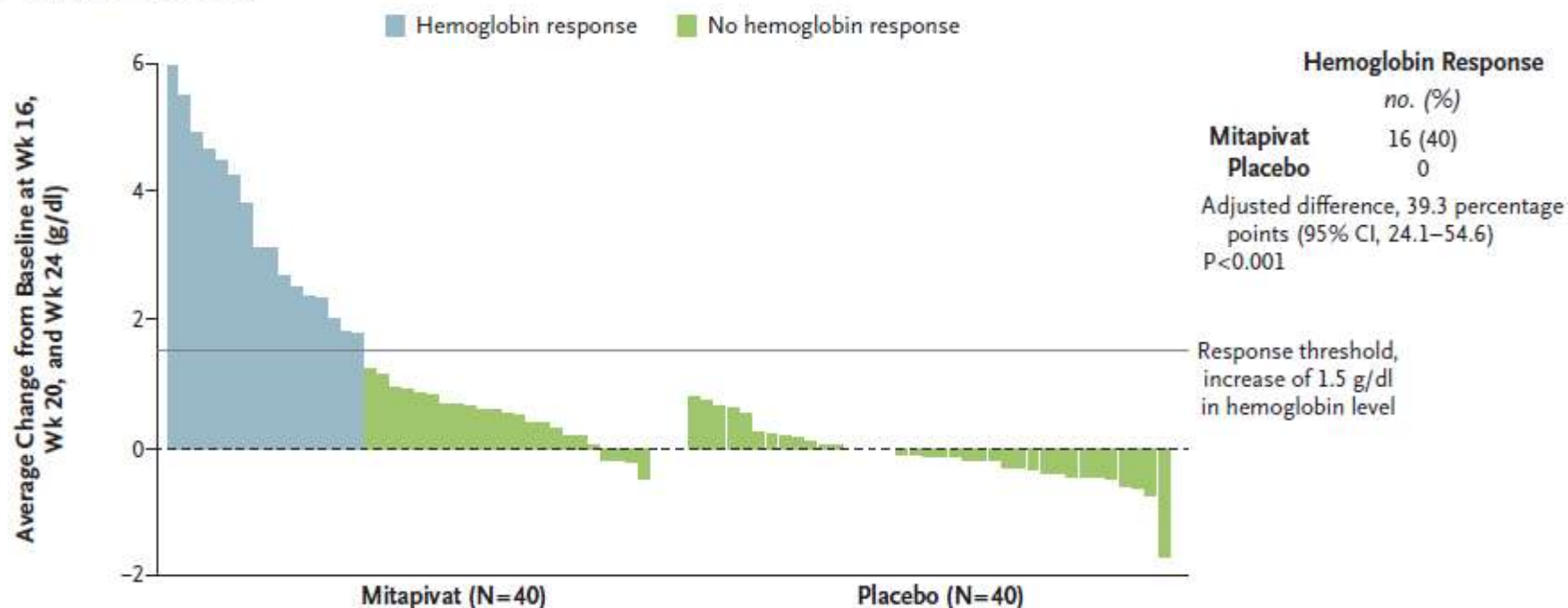


Nouveau traitement déficit PK : Mitapivat

Essai ACTIVATE :

- A augmenté le taux d'Hb
- A diminué l'hémolyse
- A amélioré les résultats rapportés par les patients.

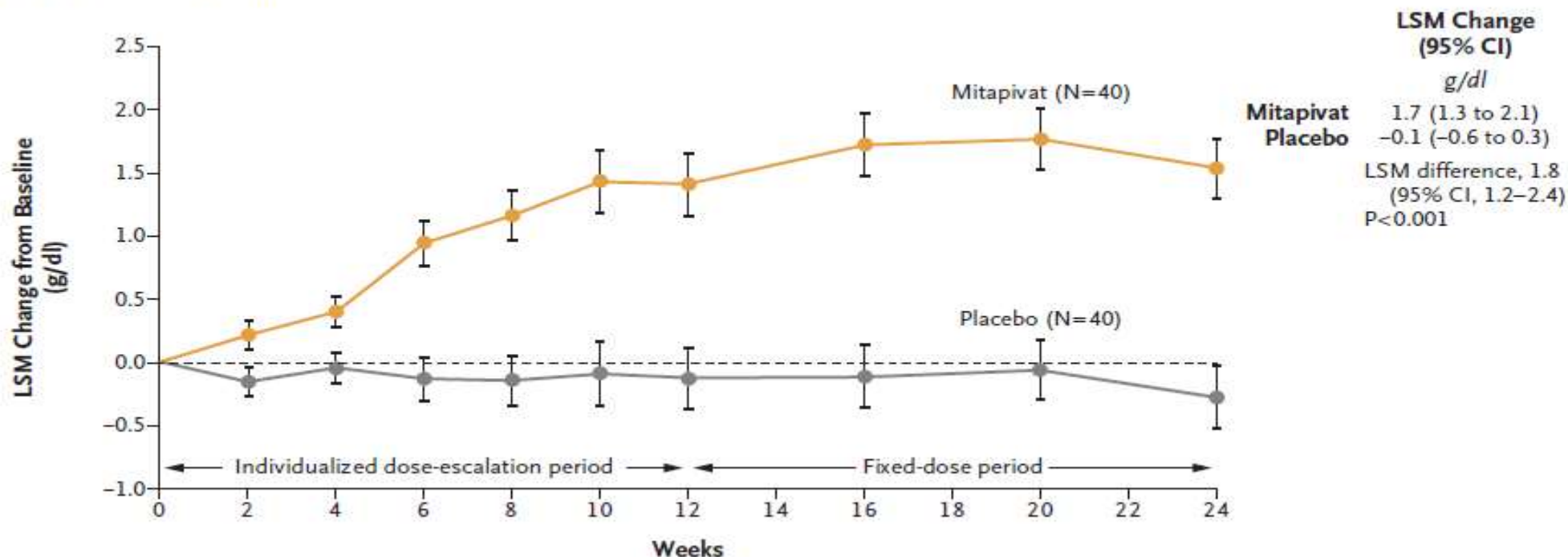
A Hemoglobin Response





Nouveau traitement déficit PK : Mitapivat

B Change in Hemoglobin Level



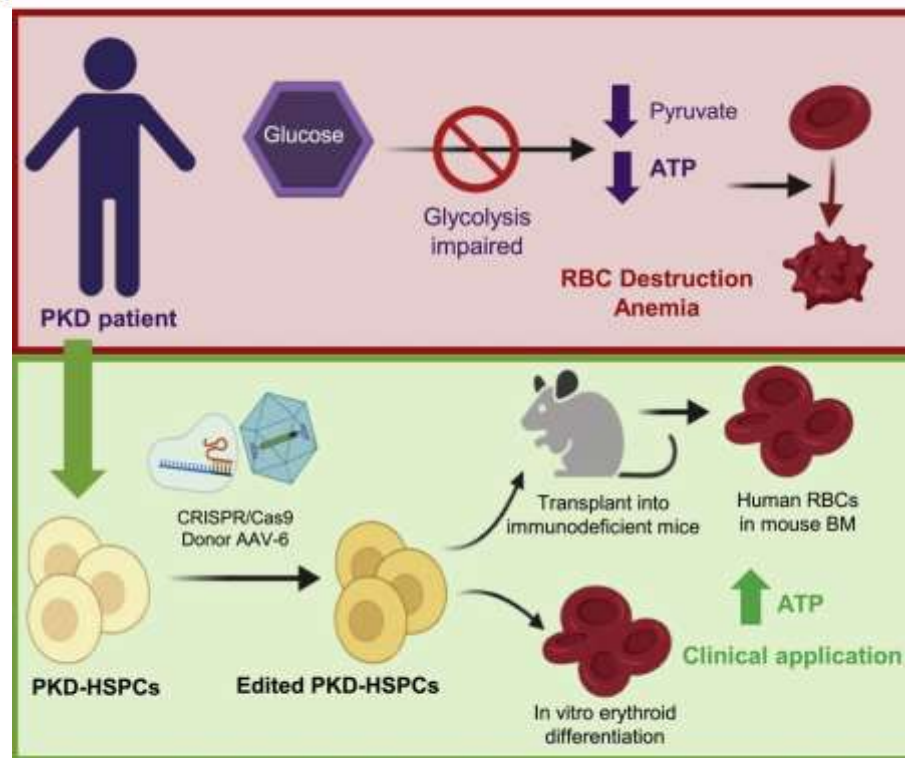
Thérapie Génique

Clinically relevant gene editing in hematopoietic stem cells for the treatment of pyruvate kinase deficiency

Sara Fañanas-Baquero,^{1,2,7} Oscar Quintana-Bustamante,^{1,2,7} Daniel P. Dever,³ Omaira Alberquilla,^{1,2} Rebeca Sanchez-Dominguez,^{1,2} Joab C Mollie S. Schubert,⁴ Annalisa Lattanzi Mark A. Behlke,⁴ Matthew Porteus,³ riguez,^{1,2} Rolf Turk,⁴ Juan A. Bueren,^{1,2}

eases.^{98,99} Preclinical studies focused on the treatment of PK deficiency by gene therapy have been successfully performed.¹⁰⁰⁻¹⁰² Autologous cells corrected with a lentiviral vector carrying a codon optimized version of the wild-type cDNA sequence of the PK-R gene have been demonstrated to be able to compensate the disease phenotype in a murine model, without any adverse effect related to the procedure.¹⁰² This procedure has been designated as an orphan drug by the European Medicines Agency (EU/3/14/1330; <https://goo.gl/T4N6mO>) and by the U.S. Food and Drug Administration (DRU-2016-5168).¹⁰³

An open-label, phase 1 gene therapy study consisting of autologous hematopoietic stem and progenitor cells transduced *ex vivo* with a lentiviral vector encoding for the PK enzyme has been approved and recently opened. PK-deficient patients with confirmed genotype and severe, transfusion-dependent anemia despite splenectomy may be eligible for enrollment (www.clinicaltrials.gov NCT04105166).





Conclusion

Les progrès récents de la génétique moléculaire des enzymopathies des globules rouges et des mécanismes structure-fonction des protéines permettent de une meilleure prise en charge ces anémies hémolytiques.

Les nouvelles thérapies représentent un nouveau levier pour le diagnostic biologique des enzymopathies.