

HOMOCYSTEINE & MUTATION DU GÈNE DE LA MTHFR

DEFINITION

L'homocystéine (Hcy) est un acide aminé soufré dérivé du métabolisme de la méthionine (acide aminé indispensable). Elle circule dans le plasma sous forme liée aux protéines plasmatiques (70 à 80 % de l'Hcy) et sous forme libre, une forme libre réduite (moins de 1 % de l'Hcy totale), et des formes libres oxydées (20 à 30 %), majoritairement l'homocystine (disulfure Hcy-Hcy) et un disulfure mixte Hcy-cystéine. Le dosage de l'Hcy totale prend en compte l'ensemble des formes libres et liées.

L'homocystéine est au carrefour de deux voies métaboliques : reméthylation et transsulfuration. La reméthylation permet de maintenir un pool cellulaire de méthionine : la méthionine synthase, vitamine B12-dépendante catalyse la conversion de l'homocystéine en méthionine en présence d'un substrat donneur de groupement méthyl, le N-5-méthyltétrahydrofolate ; le 5-méthyltétrahydrofolate provient de la réduction du 5, 10-méthylène-tétrahydrofolate par la méthylène-tétrahydrofolate-réductase (MTHFR). La reméthylation est assurée à un moindre degré par la bétaine et la bétaine-homocystéine-méthyl-transférase.

La voie de la transsulfuration convertit l'homocystéine en cystéine, précurseur du glutathion ; elle fait intervenir la méthionine adénosyl transférase, la cystathionine synthase (CBS), la cystathionase et la vitamine B6 comme cofacteur.

BIOPATHOLOGIE

L'effet toxique vasculaire de l'hyperhomocystéinémie a été reconnu grâce à l'homocystinurie congénitale par déficit en CBS, maladie autosomique récessive dans laquelle il existe une hyperhomocystéinémie importante (en général > 100 $\mu\text{mol/l}$). Cette affection est caractérisée par une athérosclérose précoce associée à des accidents thromboemboliques artériels et veineux (dès l'enfance).

Les hyperhomocystéinémies modérées (< 50 $\mu\text{mol/l}$) sont le plus souvent secondaires à des carences en vitamines intervenant dans le métabolisme de l'homocystéine (vitamines B6, B12 et acide folique), à une altération de la fonction rénale, ou à une mutation sur le gène codant la MTHFR (variant thermolabile C677T).

L'hyperhomocystéinémie modérée constitue un facteur de risque indépendant d'accidents thrombotiques artériels, veineux et de pertes fœtales répétées car elle est toxique pour l'endothélium vasculaire. Le risque vasculaire s'élève progressivement, parallèlement à

l'augmentation des concentrations plasmatiques d'homocystéine : une élévation de 5 $\mu\text{mol/l}$ d'Hcy pourrait accroître autant le risque cardiovasculaire qu'une augmentation de 0,5 mmol/l de cholestérol. Le dépistage d'une hyperhomocystéinémie est important car elle peut être corrigée par une alimentation riche en folates (fruits, légumes) et/ou un traitement vitaminique : l'acide folique, seul (0,5 à 5 mg/j) ou en association avec la vitamine B12 (0,02 à 1 mg/j) et la vitamine B6 (2 à 50 mg/j), diminue ou normalise la concentration plasmatique d'homocystéine. De fait, ces traitements pourraient constituer un moyen de prévention peu toxique et peu coûteux de nombreuses maladies vasculaires.

Le variant thermolabile de la MTHFR est une enzyme qui présente une activité diminuée par rapport à l'enzyme sauvage ; elle est due à la mutation C677T sur le gène de la MTHFR (12 % de la population caucasienne). A la différence de la concentration plasmatique d'homocystéine, cette mutation n'est pas associée au risque thrombotique. Les sujets porteurs de la mutation à l'état homozygote présentent des concentrations volontiers plus élevées d'Hcy que les sujets qui ne portent pas cette mutation et leurs besoins en folates sont plus importants ; la recherche de la mutation C677T pourra être indiquée secondairement devant la constatation d'une hyperhomocystéinémie. L'implication de ces hyperhomocystéinémies modérées dans les thromboses artérielles et veineuses a fait l'objet de nombreuses études dont les résultats sont parfois contradictoires.

Le test de charge en méthionine sensibiliserait le dépistage des sujets hyperhomocystéinémiques (dosage à jeun, puis après absorption *per os* de 100 mg/kg de L-méthionine). Mais il n'existe pas de consensus sur le délai du prélèvement en post-charge (2 heures, 3 heures, 4 heures ou 6 heures), ni sur l'interprétation des résultats.

INDICATIONS DU DOSAGE

Le dosage de l'homocystéine est indiqué dans le bilan étiologique des formes graves de maladie thromboembolique veineuse chez l'enfant et l'adulte jeune, en particulier lorsqu'un tableau neurologique est présent. Il est recommandé de doser simultanément la vitamine B12 et les folates afin de reconnaître (ou d'éliminer) une hyperhomocystéinémie due à une carence vitaminique. Le dosage de l'homocystéine peut également être demandé dans le cadre d'un test de charge en méthionine (*cf supra*).

Il est aussi utilisé chez les patients insuffisants rénaux dialysés comme marqueur d'évaluation et de suivi du risque cardiovasculaire.

Recherche de la mutation C677T sur le gène de la MTHFR : analyse de seconde intention devant une hyperhomocystéinémie.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT

Les recommandations pour le dosage de l'Hcy sont de :

- prélever le matin un sujet à jeun, sur EDTA ou héparinate de lithium (l'EDTA est l'anticoagulant de référence);
- immédiatement après le prélèvement, maintenir le tube dans la glace fondante; centrifuger, décanter dans l'heure suivant le prélèvement et, si l'analyse est différée, congeler dans les 4 h suivant le prélèvement. Le non-respect de ces précautions, entraîne un relargage de l'homocystéine des globules rouges dans le plasma et une surestimation de la concentration plasmatique d'homocystéine.

Mutation C677T du gène de la MTHFR : sang total EDTA à + 4 °C.

■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Sexe et âge, fumeur ou non ? Insuffisance rénale ou hépatique ?

Avez-vous des antécédents personnels ou familiaux de thrombose veineuse ou artérielle ?

Prenez-vous un des médicaments suivants ?

Médicaments majorant les concentrations plasmatiques d'homocystéine :

– Médicaments anti-foliques : phénytoïne (Di-Hydan®, Dilantin®), carbamazépine (Tégréto®), méthotrexate (Lédertrexate®, Novatrex®), triméthoprim (Cotrimoxazole®, Bactrim®), pyriméthamine (Malocid®, Fansidar®), triamterène (Isobar®, Prestole®), sulfasalazine (Salazopyrine®), protoxyde d'azote, extraits pancréatiques ;

– Médicaments induisant des carences en vitamine B6 ou en pyridoxal 5 phosphate : théophylline (Dilatane®, Euphylline®, Tédralan®...), contraceptifs oraux contenant des oestrogènes, isoniazide (Rimifon®, Rifater®, Rifinah®...), gentamicine (Gentalline®), procabazine (Natulan®) ;

– Autres : cholestyramine (Questran®), fibrates (Béfizal® Lipur®, Lipanthyl®, Lipanor®...) ;

Médicaments diminuant les concentrations plasmatiques d'homocystéine : acide folique (Spéciafoldine® Alvityl®, Azinc® complexe...), L-thyroxine (Lévothyrox® Euthyral®), l'insuline et la pénicillamine (Trolovol®).

■ CONSERVATION ET TRANSPORT

Conservation du plasma à – 20 °C plusieurs mois.

Transport : congelé à – 20 °C.

METHODES DE DOSAGE

Un grand nombre de méthodes sont actuellement disponibles pour déterminer l'homocystéine plasmatique totale. La technique de référence consiste

en une CLHP (chromatographie liquide haute performance) couplée à une détection en fluorescence. Des trousse pour immunodosage sont commercialisées et présentent l'avantage d'automatiser le dosage ; les résultats obtenus sont comparables et bien corrélés avec le dosage par CLHP. Il s'agit de la trousse ABBOTT sur automate IMX (dosage immunologique par polarisation de fluorescence (FPIA) et du kit DPC sur automate Immulite 2000 (dosage par compétition en immunochimiluminescence). Dans les deux cas, les formes liées et oxydées sont réduites par un traitement au DTT et c'est l'homocystéine totale qui est mesurée après conversion en S-Adénosyl-L-homocystéine (SAH) par l'intermédiaire de SAH hydrolase et d'adénosine en excès.

Il n'existe pas de standard international pour le dosage de l'homocystéine. Aussi les résultats et les valeurs de référence peuvent-ils varier d'une méthode de dosage à une autre.

VALEURS DE REFERENCE

Dans la littérature, les valeurs plasmatiques physiologiques d'homocystéine sont comprises entre 5 et 15 µmol/l. Une controverse existe entre les experts sur la valeur seuil à retenir (12, 13 ou 15 µmol/l). Le dosage d'homocystéine pour un individu donné est à interpréter en fonction du contexte clinique, des antécédents cardiovasculaires et de la méthode de dosage utilisée.

VARIATIONS PHYSIOPATHOLOGIQUES

■ VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

Les concentrations plasmatiques d'homocystéine sont sexe et âge-dépendantes : elles augmentent physiologiquement avec l'âge et sont plus élevées chez l'homme que chez la femme d'environ 20 % (chez les femmes, les valeurs « normales » rejoignent celles des hommes après la ménopause).

La consommation de tabac (fumeurs et ex-fumeurs), de café et d'alcool entraîne une augmentation de la concentration plasmatique d'homocystéine (chez les gros fumeurs, augmentation de 12 % environ chez l'homme et de 23 % chez la femme).

■ VARIATIONS PATHOLOGIQUES

NB : une diminution de l'homocystéinémie n'a pas de retentissement clinique.

Toute hyperhomocystéinémie, quelle que soit son origine, est un facteur de risque coronarien et cardiovasculaire, indépendant des autres facteurs connus.

Si l'existence d'une relation entre hyperhomocystéinémie modérée et thromboembolisme veineux reste discutée, le lien entre hyperhomocystéinémie et risque de

coronaropathie et maladie cardiovasculaire semble aujourd'hui établi.

Selon une étude de 2011 ayant repris deux registres : MESA (*Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis*) et NHANES III (*National Health and Nutrition Examination Survey III*), il ressort qu'un niveau élevé d'homocystéine ($> 15 \mu\text{mol/l}$) est un marqueur prédictif de maladie cardiovasculaire (hazard ratio ajusté [HR] : 1,79 ; intervalle de confiance à 95 % [IC] : 1,19-1,95 ; $p : 0,006$) et d'événements coronariens (HR : 2,22 ; IC : 1,20-4,09 ; $p : 0,01$) dans le registre MESA.

Dans le registre NHANES III, une homocystéinémie élevée ($> 15 \mu\text{mol/l}$) est un marqueur prédictif de maladie cardiovasculaire (HR : 2,72 ; IC : 2,01-3,68 ; $p < 0,001$) et de mortalité coronarienne (HR : 2,61 ; IC : 1,83-3,73 $p < 0,001$).

Néanmoins, un certain nombre d'études prospectives et de méta analyses ont montré l'inefficacité de la baisse médicamenteuse de l'homocystéinémie sur le risque coronarien et cardiovasculaire.

L'hyperhomocystéinémie a également été mise en cause dans des pathologies gynécologiques ou néonatales (fausses couches répétées, complications obstétricales, anomalies de fermeture du tube neural, malformations cardiaques néonatales...), troubles psychiatriques, cognitifs...

L'hyperhomocystéinémie a également été associée à une augmentation du risque de fractures ostéoporotiques chez les sujets âgés (hommes et femmes).

Principales causes d'hyperhomocystéinémie :

■ **Hyperhomocystéinémie sévère ($> 100 \mu\text{mol/l}$)**

– Homocystinurie classique : déficit homozygote en cystathionine bêta synthase (CBS) avec deux formes cliniques, l'une vitamine B6-sensible, l'autre vitamine B6-résistante.

– Homocystinurie par déficit homozygote en l'une des enzymes impliquées dans la reméthylation de l'homocystéine en méthionine, en particulier la MTHFR (méthylène tétrahydrofolate réductase) ou la méthionine synthase (MS). Dans ce type d'homocystinurie, la méthionine plasmatique est abaissée, alors qu'elle est élevée dans l'homocystinurie classique.

– Déficits en cobalamines.

■ **Hyperhomocystéinémie intermédiaire**

(31 à $100 \mu\text{mol/l}$) ou modérée (16 à $30 \mu\text{mol/l}$)

– Déficit enzymatique hétérozygote en CBS.

– Variant thermolabile C677T de la MTHFR, associé à une concentration diminuée en folates. (NB : lorsque la concentration en folates plasmatiques est normale, l'homocystéinémie n'est pas augmentée). La fréquence estimée des hétérozygotes dans la population générale d'origine caucasienne est de l'ordre de 50 % et celle des homozygotes de l'ordre de 10 %. Les patients porteurs

de ce polymorphisme à l'état homozygote présentent des concentrations plasmatiques d'homocystéine plus élevées que les patients non porteurs, et leurs besoins en folates sont plus importants.

– Carences d'apport ou d'absorption de vitamines B6, B12, folates : en particulier alcoolisme, maladie de Biermer ; dans certains cas de carence sévère en vitamine B12, l'hyperhomocystéinémie peut être très importante ($> 100 \mu\text{mol/l}$).

– Insuffisance rénale : la concentration plasmatique d'homocystéine s'élève proportionnellement au niveau d'insuffisance rénale.

– Tumeur solide, leucémie : toutes les proliférations cellulaires produisent de grandes quantités d'homocystéine.

– Hypothyroïdie : mécanisme incomplètement élucidé.

– Maladie cœliaque : par carence d'absorption des folates.

– Autres : insuffisance hépatique, hypertension artérielle, hypothyroïdie, psoriasis, au cours de certaines grossesses pathologiques.

■ **Causes médicamenteuses**

Cf. supra.

POUR EN SAVOIR PLUS

■ Logiciel d'autoformation des biologistes en hémostase, CD-Rom Bioforma 2004.

■ Chadeaux-Vekemans B., *Homocystéine totale*, Encycl Med Biol, Elsevier, Paris, 2003.

■ Candito M., Caussé E., Couderc R., et al. (Groupe SFBC Homocystéine et maladies cardiovasculaires), *Conditions préanalytiques et transférabilité des méthodes de dosage de l'homocystéine plasmatique totale*, Ann Biol Clin 2002; 60 (3):317-319.

■ Van Meurs J.B.J., DhonuksheRutten A.M., Pluijm S.M.F. et al. *Homocystéine levels and the risk of osteoporotic fracture*, N Engl J Med 2004; 350 (20):2033-2041.

■ Gonzalez-Porrás J.R., Martín-Herrero F., García-Sanz R., Lopez M.L., Balanzategui A., Mateos M.V., Pavón P., Gonzalez M., Alberca I., San Miguel J.-F., *Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent coronary event in young patients irrespective to the MTHFR C677T polymorphism*, Thromb Res. 2006 Sep 25.

■ Verranna V et coll., *Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk*, J Am Coll Cardiol., 2011; 58: 1025-33.

■ Horellou M.-H., Flaujac C., *Recommandations de recherche de facteurs biologiques de risque de maladie thromboembolique veineuse. A propos d'une observation*, Feuilles de biologie, 2013;310 :45-49.