

# Bases moléculaires des syndromes thalassémiques et facteurs génétiques modulateurs de sévérité de la beta-thalassémie.

Nathalie Bonello-Palot, Catherine Badens

► **To cite this version:**

Nathalie Bonello-Palot, Catherine Badens. Bases moléculaires des syndromes thalassémiques et facteurs génétiques modulateurs de sévérité de la beta-thalassémie.. *Revue Méditerranéenne de Génétique Humaine*, 2010, 1, pp.1-10. <hal-00634744>

**HAL Id: hal-00634744**

**<https://hal-confremo.archives-ouvertes.fr/hal-00634744>**

Submitted on 22 Oct 2011

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## Revue de la littérature

# Bases moléculaires des syndromes thalassémiques et facteurs génétiques modulateurs de sévérité de la beta-thalassémie.

Nathalie Bonello-Palot<sup>1</sup>, Catherine Badens<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Génétique Moléculaire, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille

<sup>2</sup>Centre de référence maladie rare Thalassémie, Hôpital d'enfants de la Timone, Marseille

### RÉSUMÉ

Les Thalassémies sont des anémies héréditaires dues à un défaut de production d'une des deux chaînes protéiques de l'hémoglobine, l'alpha et la beta-globine dans lesquelles la nature des mutations causales est très variée, allant de la mutation ponctuelle à de larges délétions.

Une des caractéristiques des syndromes thalassémiques est que la sévérité peut être extrêmement variable d'un individu à l'autre, notamment du fait de déterminants génétiques modulateurs agissant sur l'équilibre entre les chaînes de globine ou sur la production d'hémoglobine fœtale. Depuis une dizaine d'années et grâce à des études de liaison et d'association, les déterminants génétiques qui influencent la production d'hémoglobine fœtale à l'âge adulte sont particulièrement étudiés dans la beta-thalassémie ce qui pourrait, dans l'avenir, aboutir à l'élaboration de nouveaux outils pronostiques ou thérapeutiques.

### SUMMARY

Thalassaemia is a group of inherited haemoglobin disorders characterized by reduced synthesis of one or more of the globin chains leading to imbalanced alpha /non-alpha globin production. These disorders display remarkable diversity in the severity, mainly related to the degree of chain imbalance and to the innate ability to produce fetal haemoglobin in adult life.

Several genetic factors have recently been shown to influence HbF levels in beta-thalassaemia and may lead to new strategies to modify the disease course of severe haemoglobin disorders.

\*Auteur correspondant: Catherine Badens  
Laboratoire de Génétique Moléculaire  
Hôpital d'enfants de la Timone  
13385 Marseille-France  
Courriel: [catherine.badens@ap-hm.fr](mailto:catherine.badens@ap-hm.fr)  
Tel: 33 491 38 77 87  
Fax: 33 491 38 46 76

## INTRODUCTION

Les syndromes thalassémiques sont caractérisés par un déséquilibre de la production des 2 chaînes protéiques constituant l'hémoglobine. Dans les conditions physiologiques, ces deux chaînes, l'alpha et la beta-globine, sont synthétisées en des proportions égales; elles fixent chacune une molécule d'hème et s'associent entre elles pour former un tétramère alpha<sub>2</sub>beta<sub>2</sub>. Tout déséquilibre dans la synthèse de l'une des chaînes va entraîner d'une part, une anémie par défaut de synthèse d'hémoglobine et d'autre part, une hémolyse et une dysérythropoïèse, par excès de l'autre chaîne qui, restant libre, précipite dans le globule rouge et dans l'érythroblaste (Weatherall et al, 1965 ; Shrier et al, 2007). C'est l'amplitude du déséquilibre qui conditionne la sévérité du tableau clinique : un déséquilibre total par absence de l'une des chaînes entraîne une anémie létale en l'absence de traitement par transfusion (Thalassémie Majeure). A l'opposé, un léger déséquilibre sera compensé chez le porteur sain (Thalassémie Mineure) et n'entraînera pas d'anémie symptomatique mais seulement des modifications de taille (microcytose) et de nombre des globules rouges (polyglobulie) qui contiennent moins d'hémoglobine que les globules rouges normaux (hypochromie). Entre les deux, des déséquilibres variables produiront une anémie modérée et relativement bien tolérée (Thalassémie Intermédiaire) avec un recours occasionnel à la transfusion.

La Thalassémie Mineure, aussi appelée « trait thalassémique », est particulièrement fréquente dans les régions impaludées du monde car les modifications des indices érythrocytaires confèrent aux hétérozygotes un certain degré de protection contre l'infection palustre et, par conséquent, un avantage sélectif (Weatherall, 2004).

### Les différentes hémoglobines et les gènes de globine.

L'hémoglobine A (HbA) (alpha<sub>2</sub>beta<sub>2</sub>) est l'hémoglobine majoritaire au stade adulte et représente plus de 97% de l'hémoglobine totale. L'autre hémoglobine adulte, l'HbA<sub>2</sub> (alpha<sub>2</sub>delta<sub>2</sub>) représente moins de 3% de l'hémoglobine totale chez l'individu normal et n'a pas de rôle physiologique. Elle a en revanche, un intérêt diagnostique car elle est légèrement augmentée chez les individus hétérozygotes pour une beta-thalassémie. L'hémoglobine fœtale ou HbF (alpha<sub>2</sub>gamma<sub>2</sub>), est majoritaire pendant la période fœtale et représente encore à la naissance plus de 80% de l'hémoglobine totale ; elle est progressivement remplacée par l'Hb A au cours des premiers mois de vie. La chaîne alpha est donc commune à toutes les Hb présentes pendant la vie fœtale et adulte, l'Hb A, l'HbA<sub>2</sub> et l'HbF ; seule la chaîne non-alpha diffère (figure 1). Il existe également des hémoglobines exprimées au stade embryonnaire et constituées de chaînes spécifiques, produites uniquement pendant la période embryonnaire.

Chaque chaîne de globine est codée par un gène différent. Ces gènes ont tous une structure similaire comprenant 3 exons et 2 introns, et un promoteur contenant, entre autres, une TATA box.

Les gènes de globine sont répartis en 2 clusters, l'un codant pour les chaînes alpha-globine, situé sur le chromosome 16 et l'autre codant pour les chaînes non-alpha (beta, delta et gamma) situé sur le chromosome 11 (figure 1). Ces clusters ont également une organisation similaire : ils contiennent plusieurs gènes homologues exprimés, soit au cours de la période embryonnaire, soit au cours de la période fœtale, soit au cours de la vie adulte, et répartis de 5' en 3' dans leur ordre d'expression au cours du développement. Les deux clusters possèdent une région régulatrice en amont du locus indispensable à l'expression régulée des gènes (Forget et al, 2001).

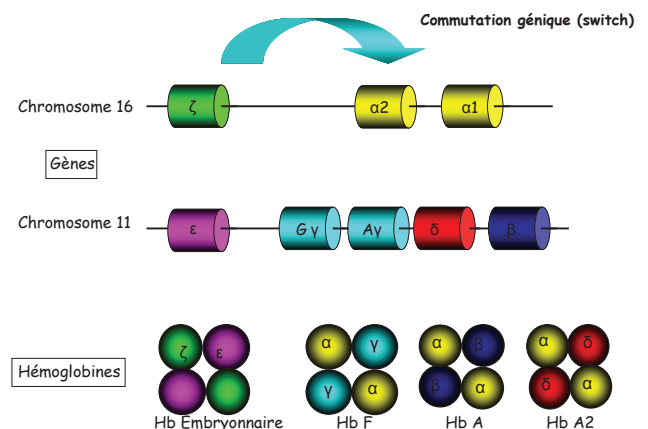


Figure 1 : Les différentes chaînes protéiques des hémoglobines et les gènes correspondants

Le locus alpha-globine contient, outre la région régulatrice en amont nommée HS40, un gène embryonnaire et deux gènes adultes, alpha1 et alpha2-globine (respectivement *HBA1* [MIM 141800] et *HBA2* [MIM 141850]) qui codent pour la même chaîne protéique : l'alpha-globine (figure 1). Le fait d'avoir 2 gènes par allèle pour une même protéine et donc 4 gènes fonctionnels par génome diploïde, va augmenter le nombre de génotypes potentiellement associés à une maladie : en effet, dans une maladie autosomique récessive, on distingue en général 3 génotypes suivant que le sujet est homozygote pour la séquence de référence, hétérozygote ou homozygote muté. Dans le cas des pathologies associées aux gènes alpha-globine, on distinguera 5 génotypes en fonction du nombre de gènes altérés. Ces génotypes et les phénotypes associés sont détaillés plus loin.

Le locus beta-globine comporte une région régulatrice appelée LCR composée de plusieurs sites en amont et d'au moins un site en 3' du locus. On retrouve, dans l'ordre de leur expression au cours du développement, un gène

embryonnaire, deux gènes fœtaux appelés gènes gamma, codant pour des chaînes identiques à 1 acide aminé près et deux gènes adultes, le gène beta (*HBB* [MIM 141900]) et le gène delta, entrant dans la composition des hémoglobines Hb A et A<sub>2</sub> respectivement (figure 1). Comme nous l'avons vu plus haut, l'hémoglobine A<sub>2</sub> n'a pas de rôle physiologique, le gène delta n'est donc pas impliqué en pathologie humaine. Seules les anomalies du gène beta-globine entraîneront un phénotype clinique de transmission autosomique récessive classique.

## LES BASES MOLECULAIRES DES THALASSEMIES

Si le tableau clinique des thalassémies est relativement homogène, les bases moléculaires en sont extrêmement variées. Plus de 300 mutations affectant l'expression des gènes de globine ont été rapportées à ce jour, les 3 quarts concernant le locus beta-globine.

## LES ALPHA-THALASSEMIES

Les formes délétionnelles :

Schématiquement, deux types de délétions sont retrouvées dans le locus alpha-globine (figure 2):

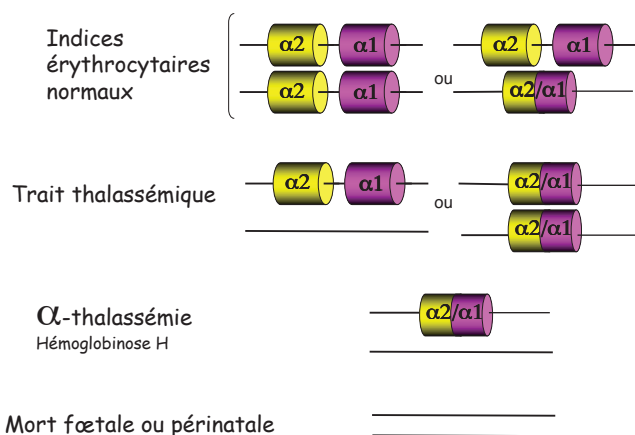


Figure 2. Phénotype associé aux différents génotypes du locus alpha-globine

### ● Les délétions alpha<sup>0</sup>-thalassémiques

Ces délétions, emportant les 2 gènes alpha-globine en cis, sont appelées « délétions de type 1 » ou « délétions alpha<sup>0</sup>-thalassémiques » ; elles aboutissent à une absence totale de gène adulte fonctionnel et par conséquent, à une absence de production de chaîne alpha-globine à partir du locus délété;

### ● Les délétions alpha<sup>+</sup>-thalassémiques :

Les délétions de type 2, encore appelées délétions alpha<sup>+</sup>-thalassémiques, correspondent à la perte de la région intergénique et d'une partie des gènes alpha-globine. Elles conservent le cadre de lecture et aboutissent soit à la délétion

d'un des deux gènes (exemple : alpha-4,2kb) soit à la création d'un gène de fusion hybride alpha1/alpha2 fonctionnel (exemple : délétion alpha-3,7kb). Dans ce type de délétion, une production de chaîne alpha-globine persiste à un niveau assez élevé puisque le gène restant se trouve sous le contrôle du promoteur alpha2 responsable de 70% de la production de chaîne alpha-globine totale. Ces anomalies moléculaires du locus alpha-globine résultent de recombinaisons inégales favorisées par l'existence de grandes régions d'homologie autour des deux gènes alpha-globine qui constituent des zones potentielles de mésappariement. Les introns de ces gènes sont particulièrement courts et peu divergents et n'empêchent donc pas les appariements illégitimes.

Dans les deux types de délétions, différents points de cassure ont été caractérisés (Kanavakis and Traeger-Synodinos, 2006). Si certaines des mutations sont des mutations privées, d'autres sont récurrentes et retrouvées avec une fréquence élevée dans différentes régions du monde, principalement en Asie du Sud Est et en Inde pour les deux types de délétions, et en Afrique, sur le pourtour Méditerranéen et au moyen Orient pour les délétions de type 2. Les délétions les plus fréquemment rencontrées sont résumées dans le tableau 1.

Des formes délétionnelles plus rares ont été rapportées et sont particulièrement intéressantes du point de vue de leurs mécanismes d'action car elles concernent des régions très à distance des gènes de globine qui, eux, restent intacts. Elles emportent une région conservée contenant des éléments régulateurs (région nommée HS-40), indispensable à l'expression régulée des gènes alpha et entraînent donc un phénotype d'alpha-thalassémie bien que le gène lui-même ne soit pas modifié (Viprakasit et al, 2006). Une autre de ces délétions se situe au contraire en 3' du locus (Tufarelli et, 2003) ; elle préserve le gène alpha2-globine et les éléments régulateurs mais juxtapose en 3' de ce gène, le promoteur d'un gène situé normalement 18kb plus loin et codé par le brin opposé par rapport aux gènes de globine. Suite à l'action de ce promoteur, un transcrite ARN anti-alpha-globine est alors produit, agissant comme un antisens sur le gène alpha2-globine et entraînant méthylation et répression de l'expression ce gène.

### Les mutations ponctuelles

Des mutations ponctuelles peuvent également être à l'origine d'une inactivation d'un des deux gènes et siègent le plus souvent dans le gène *HBA2* Plusieurs d'entre elles affectent les sites d'épissage, donneur ou accepteur, et entraînent une absence totale de production de chaîne alpha-globine par le gène altéré. D'autres affectent le signal de polyadénylation du gène alpha2 et ont une expression assez sévère. Au moins 5 mutations différentes affectent le codon stop du gène alpha2 et ont pour effet une élongation de la chaîne alpha-globine de plusieurs AA (jusqu'à 31). Ces chaînes allongées

sont synthétisées, mais dans une faible proportion ; elles sont instables et ont tendance à précipiter dans le globule rouge, provoquant des anomalies des membranes et une hémolyse. La plus commune des chaînes allongées donne l'hémoglobine « Constant Spring », retrouvée en Asie du Sud Est avec une fréquence élevée et est responsable d'alpha-thalassémies symptomatiques, notamment en association avec des formes délétionnelles. Les mutations les plus fréquentes sont rapportées dans le tableau 1.

Nom usuel	Altération de séquence
- $\alpha$ -3.7	Délétion -fusion
- $\alpha$ 4.2	Délétion du gène alpha2
--20.5	Délétion des deux gènes
--MED	Délétion des deux gènes
--SEA	Délétion des deux gènes
--THAI	Délétion des deux gènes
--FIL	Délétion des deux gènes
$\alpha$ 1 cd 14	c.44G>A
$\alpha$ 1 cd 59	c.179G>A (Hb Adana)
$\alpha\alpha$ anti-3.7	Insertion d'un gène hybride alpha2/alpha1
$\alpha$ 2 init. Cd	c.2T>C
$\alpha$ 2 cd 19	c.56delG
$\alpha$ 2IVS1	c.95+2_95+6delTGAGG
$\alpha$ 2 cd 59	c.179G>A
$\alpha$ 2 cd 125	c.377T>C (Hb Quong Sze)
$\alpha$ 2 cd 142	c.427T>C (Hb Constant Spring)
$\alpha$ 2 cd 142	c.427T>A (Hb Icaria)
$\alpha$ 2 cd 142	c.429A>T (Hb Pakse)
$\alpha$ 2 cd 142	c.428A>C (Hb Koya Dora)
$\alpha$ 2 polyA-1	c.*+94A>G (Type Saoudien)
$\alpha$ 2 polyA-2	c.*+92A>G (Type turquie)

**Tableau 1.** Anomalies moléculaires les plus fréquemment identifiées dans le locus alpha-globine.

## NOMENCLATURE DES MUTATIONS ALPHA-THALASSÉMIQUES

La nomenclature usuellement utilisée pour les alpha-thalassémies est la suivante : un allèle normal est symbolisé «  $\alpha\alpha$  », la délétion d'un seul gène alpha sur un allèle : «  $-\alpha$  » et la délétion des 2 gènes sur le même allèle «  $-\alpha-$  ». En exposant, est souvent précisée la taille de la délétion (ex  $-\alpha^{-3,7\text{kb}}$ ) ou le symbole qui lui a été affecté (ex :  $\alpha^{\text{polyA}}$  pour une mutation ponctuelle siégeant dans le polyA ;  $-\alpha^{\text{SEA}}$  pour une délétion décrite dans la population du Sud Est Asiatique). Toutes les mutations décrites dans la littérature sont répertoriées sur le site <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/menu.html> qui donne à

la fois la dénomination usuelle et la dénomination selon les règles internationales (Patrinos et al, 2004).

## Corrélation génotype/phénotype

Le phénotype associé aux alpha-thalassémies sera fonction du nombre de gènes altérés (figure 2):

- Les génotypes présentant un seul gène altéré soit 3 gènes fonctionnels (par exemple hétérozygote pour la délétion-fusion), ne produisent en général aucun phénotype, ni clinique, ni biologique, en dehors d'une microcytose inconstante.

- Les hétérozygoties pour les délétions emportant les 2 gènes ou les homozygoties pour les délétions-fusions ne laissent que 2 gènes alpha-globine fonctionnels ; la baisse de production de chaîne alpha-globine qui en résulte n'entraîne pas d'anémie mais il apparaît une microcytose et une polyglobulie caractéristique du trait thalassémique (encore appelé thalassémie mineure). Les mutations ponctuelles du gène alpha2 auront un effet plus prononcé que les mutations ponctuelles du gène alpha1 car alpha2 est 2 à 3 fois plus exprimé qu'alpha1.

- L'association des 2 types de délétions décrites plus haut ou encore d'une délétion de type 1 et d'une mutation ponctuelle, ne laisse qu'un seul gène fonctionnel ; le défaut de chaîne alpha-globine est alors symptomatique et il existe, dès la naissance, une anémie chronique (en moyenne 80 à 100 g/l) assez bien tolérée en général et ne nécessitant pas de transfusion systématique. Les chaînes beta-globine en excès s'apparient pour former un tétramère homologue beta4 appelé Hémoglobine H, c'est pourquoi on appelle aussi cette forme d'alpha-thalassémie, l'hémoglobinose H. Cette hémoglobine est instable et a tendance à précipiter dans le globule rouge en formant des corps de Heinz. Elle est détectable en électrophorèse ou en HPLC avec des taux variables de 2 à 30% (Papassotiriou et al, 1999). Chez ces patients, pendant les tout premiers mois de vie, quand l'Hb F est encore présente, on pourra aussi détecter des tétramères de chaînes Gamma, appelés Hb Bart's et caractéristiques de l'alpha-thalassémie en période post-natale.

- Enfin, l'homozygotie pour la délétion de type 1, en supprimant totalement la production de chaîne alpha-globine dès la période fœtale, conduit à une anémie sévère, précoce en période fœtale et à une mort *in utero* ou en période perinatale, dans un tableau d'anasarque foeto-placentaire.

## Cas particuliers des alpha-thalassémies syndromiques

En 1981, Weatherall décrit pour la première fois un syndrome associant un retard mental profond, un trait alpha-thalassémique, une dysmorphie faciale et des anomalies génitales (Weatherall et al 1981).

Par la suite, deux anomalies génétiques ont été caractérisées dans ce syndrome. Les patients atteints d'ATR-16 (pour Alpha-thalassémie, retard mental liés au chromosome 16, [MIM 141750]) présentent une large délétion de novo de 1 à 2 Mb de la partie télomérique du chromosome 16, région particulièrement riche en gènes et contenant entre autres, le locus alpha-globine (Lamb et al, 1989, Harteveld et al, 2007). Le syndrome ATR-X (pour Alpha-thalassémie, retard mental liés au chromosome X [MIM 300032]) est causé par des mutations ponctuelles du gène *ATRX* codant pour une protéine de remodelage chromatinien (Gibbons et al, 1995, Gibbons et al, 2008). Le gène est localisé sur le chromosome X et les mutations sont le plus souvent transmises. Dans le cas du syndrome ATRX, on suppose que la protéine *ATRX* est nécessaire à l'expression régulée des chaînes alpha-globine mais le mécanisme d'action n'est pas connu.

## LES BETA-THALASSÉMIES

### Les mutations ponctuelles

Dans ce locus, les anomalies les plus fréquentes sont de loin les mutations ponctuelles. Ici aussi, on distingue les mutations  $\beta^+$ -thalassémiques qui diminuent l'expression du gène sans l'abolir, des mutations  $\beta^0$ -thalassémiques qui abolissent totalement l'expression du gène *HBB*. Plus de 200 mutations ont été rapportées à ce jour et sont représentatives de tous les mécanismes mutationnels décrits (tableau 2):

- mutation aboutissant à une suppression totale ou presque totale de l'expression du gène (mutation  $\beta^0$ -thalassémique): ce sont des mutations non sens, des insertions ou délétions entraînant un décalage du cadre de lecture ou des mutations des sites d'épissage ou du codon d'initiation,
- mutations entraînant une diminution de l'expression : certaines mutations affectent des séquences régulatrices comme les séquences conservées du promoteur (TATA box, CAAT box ou motifs CACCC) ou les séquences 5' ou 3' non traduites. D'autres créent ou activent un site alternatif d'épissage. Ce dernier type de mutation peut être localisé dans une région codante du gène et avoir donc 2 effets : un effet faux-sens qui va aboutir à la synthèse d'une chaîne de globine anormale et donc à une hémoglobine anormale, et un effet sur l'épissage (en créant ou en activant un site cryptique d'épissage) qui conduit à une diminution du niveau de production de la chaîne protéique anormale. On parlera ici de variant de l'hémoglobine à effet thalassémiant ; le plus fréquent de ces variants est l'hémoglobine E particulièrement répandue en Asie.
- Certaines mutations siégeant dans le promoteur ou dans les régions 5' et 3' non traduites ont un effet particulièrement discret sur le niveau de synthèse de la chaîne beta-globine. Chez l'hétérozygote, elles n'entraîneront aucune

modification ni clinique ni biologique. Chez l'homozygote, elles produisent un tableau classique de trait thalassémique avec microcytose, polyglobulie et élévation de l'Hb A2 ; Elles ne seront réellement pathogènes qu'en association avec une mutation  $\beta^0$ -thalassémique sur l'autre allèle et produiront un phénotype de thalassémie intermédiaire. On les appelle des mutations beta-thalassémiques silencieuses ou mutations  $\beta^{++}$ -thalassémiques.

- Des mutations beta-thalassémiques rares ont été décrites avec une transmission dominante. Ce sont des mutations ponctuelles faux sens qui entraînent la production d'une chaîne protéique tronquée hyperinstable, incapable de s'associer avec la chaîne alpha-globine normale et rapidement détruite dans l'érythroblaste. Cette destruction précoce va entraîner un certain degré de dysérythropoïèse mimant une thalassémie intermédiaire (Efremov, 2007).

### Les formes délétionnelles

Ces formes sont plus rares dans le groupe des beta-thalassémies mais peuvent toutefois être rencontrées. Elles emportent le gène beta-globine de façon isolée ou en association avec d'autres gènes du locus. Ainsi, on a décrit des délétions responsables de  $\beta^0$ -thalassémie, de delta-beta-thalassémie ou de gamma-delta-beta-thalassémie. Ces délétions peuvent aussi ne concerner que la région régulatrice située en amont du locus et indispensable à l'expression correcte du gène de beta-globine, le LCR (mécanisme déjà décrit dans les alpha-thalassémies).

Les delta- beta-thalassémies sont des délétions qui impliquent le gène beta et le gène delta-globine. Elles emportent aussi des régions régulatrices situées en 3' des gènes fœtaux, ayant un rôle dans la répression de ces gènes pendant la vie adulte (Katsantoni et al 2004). Ces délétions à l'état homozygote sont associées à une expression importante des gènes fœtaux au stade adulte et entraînent donc la synthèse de taux élevés d'Hb fœtale. Cette Hb fœtale fonctionnelle peut « sauver » le phénotype thalassémique et donner un tableau clinique très peu symptomatique même en l'absence de gènes beta-globine fonctionnels.

D'autres délétions conservent un cadre de lecture entre 2 gènes et aboutissent à des gènes hybrides. C'est le cas de la délétion de l'Hb Lepore responsable de la formation d'un gène hybride delta-beta. La chaîne protéique exprimée est fonctionnelle mais le gène de fusion étant sous le contrôle du promoteur delta, elle n'est que très peu exprimée. A l'état homozygote ou en association avec un allèle beta-thalassémique, elle produit un tableau de thalassémie intermédiaire.

Enfin, un mécanisme de délétion somatique du locus beta-globine a été décrit chez quelques patients constitutionnellement hétérozygotes pour des mutations

Position	Nomenclature officielle	Type $\beta$ -Thalassémie	MED	MO	SEA
-101	c.-151C>T	+	x		
-87	c.-137C>G	+	x		
-31	c.-81A>G	+			x
-30	c.-80T>A	+	x		
-29	c.-79A>G	+			x
-28	c.-78A>G	+			x
cap+1	c.-50A>C	+		x	x
Initiation cd	c.2T>G	0			x
cd 5	c.17_18delCT	0	x	x	
cd 6	c.20delA	0	x		
Cd 8	c.25_26delAA	0	x	x	
Cd 8/9	c.27_28insG	0	x	x	x
Cd 15	c.47G>A	0	x		
Cd 15	c.48G>A	0		x	x
Cd 16	c.51delC	0		x	
Cd 17	c.52A>T	0			x
Cd 22	c.68_74delAAGGTG	0		x	
Cd 26 HbE	c.79G>A	-			x
Cd 27	c.82G>T	+	x		
Cd 27/28	c.84_85insC	0			x
Cd 30	c.92G>C	0		x	
IVS 1.1	c.92G>A	0	x	x	
IVS 1.1	c.92+1G>T	0		x	x
IVS 1.5	c.92+5G>C	+	x	x	x
IVS 1.6	c.92+6T>C	+	x	x	
IVS 1.110	c.93-21G>A	+	x	x	
IVS 1-25	c.91-21_46del	0		x	
Cd 36/37	c.112delT	0		x	
Cd 39	c.118C>T	0	x	x	
Cd 41/42	c.124_126delTTCT	0		x	x
Cd 43	c.130G>T	0			x
Cd 44	c.135delC	0	x	x	
IVS 2.1	c.315+1G>A	0	x	x	x
IVS 2.654	c.316-146T>G	+			x
IVS 2.745	c.316-106C>G	+	x	x	
IVS 2.848	c.316-3C>A	+	x		
Cd 121	c.364G>T	0		x	

**Tableau 2 :** Anomalies moléculaires les plus fréquentes dans le gène  $\beta$ . (MED : population Méditerranéenne, MO : population du Moyen Orient, SEA : population du Sud Est Asiatique)

beta-thalassémiques. Chez ces patients, une délétion somatique de l'allèle beta-globine normal survenue précocement dans la lignée hématopoïétique, entraîne l'apparition d'une mosaïque de cellules, certaines comportant un gène beta-fonctionnel et les autres n'en possédant plus (Badens et al, 2002, Galanello et al, 2004). Le tableau clinique associé est celui d'une thalassémie intermédiaire.

### Nomenclature des mutations beta-thalassémiques

La plupart des mutations beta-thalassémiques récurrentes sont décrites depuis plus de 20 ans. Elles sont désignées par une dénomination consacrée par l'usage mais différente de la nomenclature recommandée. Toutes les mutations décrites dans la littérature sont également répertoriées sur le site <http://globin.cse.psu.edu/hbvar/menu.html> qui donne à la fois la dénomination usuelle et la dénomination selon les règles internationales (Patrinos et al, 2004).

### Corrélation génotype/phénotype

Il existe une corrélation assez forte entre le type de mutation beta-thalassémique qui conditionne le niveau de perturbation de la synthèse de la chaîne protéique et la sévérité clinique (Weatherall et Clegg, 2001). L'effet d'une mutation sur le niveau d'expression du gène dépend de sa nature et de sa localisation (Kanavakis et Traeger-Synodinos, 2006). Les mutations beta-thalassémiques sont schématiquement classées en  $\beta^0$ ,  $\beta^+$ ,  $\beta^{++}$  ou selon un retentissement décroissant sur le niveau d'expression du gène. Les mutations localisées dans le promoteur ou dans les introns sont en principe moins délétères que les mutations non-sens ou les mutations localisées sur les sites consensus d'épissage ou encore les délétions emportant l'ensemble du gène. En règle générale, l'hétérozygote beta-thalassémique ou porteur sain n'est pas symptomatique, il présente seulement les modifications érythrocytaires typiques (pseudopolyglobulie et microcytose) et une élévation modérée de l'HbA2 (entre 4 et 7%). Chez l'homozygote ou l'hétérozygote composite, les 2 allèles sont mutés ; on observe alors, en fonction de la combinaison des effets des 2 mutations, un continuum de sévérité allant de formes silencieuses jusqu'à la thalassémie majeure.

### LES FACTEURS MODULATEURS D'ORIGINE GENETIQUE DE LA BETA-THALASSEMIE

Si le tableau clinique de la beta-thalassémie est relativement homogène, on observe des variations importantes dans la sévérité d'expression clinique de cette pathologie. La sévérité dépend en premier lieu de la nature des mutations causales dans les gènes de beta-globine mais aussi de l'association à un variant alpha-globine qui va influencer directement l'équilibre entre les deux chaînes protéiques alpha et beta-globine. Elle dépend aussi de la capacité du patient thalassémique à produire de l'Hb foetale à l'âge adulte,

production qui viendra compenser partiellement ou en totalité, l'absence d'Hb adulte (Weatherall et Clegg, 2001).

### Facteurs influençant l'équilibre entre les chaînes :

- L'Alpha hemoglobin stabilising protein (AHSP).

L'AHSP est une protéine chaperone de la chaîne alpha-globine de description relativement récente (Kihm et al, 2002). Elle forme un complexe stable avec la chaîne alpha-globine et prévient ainsi la précipitation des chaînes libres. Son rôle éventuel dans la modulation de la sévérité chez le sujet beta-thalassémique a été suggéré (Luzzatto et Notaro, 2002) mais les études visant à le démontrer ont donné des résultats contradictoires (Viprakasit, 2004, Lai et al, 2006, Dos Santos et al, 2008).

- Modulation par association de variants alpha-globine

Les signes cliniques de la beta-thalassémie étant autant liés à l'absence des chaînes beta-globine qu'à l'excès de chaîne alpha-globine restant libre, l'association d'un défaut thalassémique alpha, en corrigeant dans une certaine mesure l'excès de chaîne libre, peut moduler l'expression de la beta-thalassémie. Si elle n'a que peu d'effet sur la forme majeure, l'association d'une alpha-thalassémie à une beta-thalassémie intermédiaire en atténue la sévérité (Kannavakis et al, 2004, Thein 2008).

**A** l'opposé, il existe dans le locus alpha-globine une anomalie moléculaire correspondant à une insertion d'un gène alpha fonctionnel. Cette insertion est le réarrangement en miroir de la délétion-fusion dont nous avons déjà parlé, qui survient très fréquemment dans le locus alpha-globine et aboutit à un gène hybride alpha2/alpha1. L'insertion conduit à un allèle contenant 3 gènes alpha-globine fonctionnels qui s'expriment et entraînent une légère surproduction des chaînes d'alpha globine. Cette particularité isolée n'a pas d'effet clinique même à l'état homozygote. En revanche, associée à une beta-thalassémie hétérozygote dans laquelle il existe un léger excès de chaînes alpha, elle aggrave la proportion de chaînes alpha libres et peut entraîner l'apparition d'une anémie symptomatique (Galanello et al 1983). Les anémies produites par cette association sont plus ou moins sévères (Traegger-Synodinos, 1996, Camaschella et al, 1997) probablement en raison d'un nombre variable de gènes fonctionnels résultant des insertions. En effet, une équipe a décrit récemment des duplications de l'ensemble du locus alpha-globine conduisant à des allèles à 4 gènes alpha-globines fonctionnels. Les individus hétérozygotes pour cette duplication possèdent donc 6 gènes alpha-fonctionnels et présentent une véritable thalassémie intermédiaire quand elle est associée à une mutation beta-thalassémique (Harteveld et al, 2008).



### Modulation de la sévérité par persistance d'HbF.

Le taux d'hémoglobine fœtale, après l'âge de 4 ans, est inférieur à 0,6% de l'hémoglobine totale dans la population générale. Toutefois, chez 10 à 15 % des individus, ce taux est augmenté et se situe entre 0,8 et 5% (Thein et al, 2005). Cette condition n'entraîne aucun signe clinique ni biologique chez les sujets sains. Quand elle est associée à un défaut majeur de la chaîne beta-globine, elle peut atténuer le phénotype puisque la chaîne fœtale, en s'associant avec la chaîne alpha-globine libre, diminue la proportion de chaînes libres et forme de l'Hb F qui vient corriger l'anémie. L'identification des déterminants génétiques contrôlant le taux d'HbF chez l'adulte est un champ de recherche très actif qui pourrait conduire à la caractérisation de marqueurs pronostiques individuels.

Certains facteurs génétiques modulant l'expression de l'HbF sont liés au locus beta-globine mais l'existence de déterminants transmis de façon indépendante du locus beta-globine a aussi été démontrée grâce à des études de ségrégation (Gianni et al 1983, Giampaolo et al 1984, Martinez et al 1989).

Dans le locus beta-globine, un SNP localisé dans le promoteur du gène *HBG2* et couramment appelé « polymorphisme XmnI » en raison du site de clivage créé pour l'enzyme de restriction XmnI, a été très étudié (Labie et al, 1985). Ce polymorphisme est retrouvé dans toutes les populations à une fréquence variable qui peut aller jusqu'à 35%. Des études ont montré qu'il est responsable pour un tiers des variations du taux d'Hb F retrouvés chez des adultes sains (Garner et al, 2000). L'effet de ce polymorphisme est surtout sensible dans les conditions de stress anémique observés chez le patient thalassémique ou drépanocytaire. On ne sait pas encore s'il a un effet direct ou s'il est simplement lié à un déterminant génétique situé ailleurs dans le locus.

Des études beaucoup plus récentes ont pu identifier plusieurs loci non liés au locus beta-globine, ayant également une influence importante sur le taux d'Hb F.

Le premier de ces loci a été identifié en Xp22 chez des patients drépanocytaires comme étant lié à des taux d'HbF significativement plus élevés (Dover et al 1992 et Chang et al, 1995) mais aucun gène n'a pu être identifié dans la région et l'association n'a pas été confirmée par la suite dans d'autres études.

En revanche, un autre locus identifié à la même époque en 6q23 par analyse de liaison dans une très grande famille indienne (Thein et al 1994, Craig et al, 1996) s'est révélé être un des sites majeurs impliqués dans les variations du taux d'Hb F chez l'adulte. Ce QTL (pour Quantitative Trait Locus) serait responsable de 17% des variations du taux d'Hb F observés chez les adultes sains et a été validé dans

une population européenne (Thein et al, 2007) ainsi que sur des individus porteurs d'un trait beta-thalassémique (So et al, 2008). La région d'intérêt contient entre autres, le gène *HBS1L* codant pour un membre de la famille des GTP-binding protein et exprimé dans les précurseurs érythroïdes, et *cMYB*, codant pour un proto-oncogène jouant un rôle dans la différenciation et la prolifération cellulaire (Close et al, 2004). MYB intervient dans la cinétique de l'érythropoïèse en freinant la différenciation et en favorisant les étapes de prolifération (Jiang et al, 2006). Les SNPs impliqués dans la variation du taux d'HbF sont situés dans la région intergénique entre *HBS1L* et *cMYB*. Ils ont été bien caractérisés dans plusieurs échantillons de populations d'origines géographiques différentes; certains des haplotypes ont été retrouvés significativement liés à des taux élevés d'Hb F et à un niveau d'expression diminué de MYB (Thein et al, 2007). Une expression basse de MYB entraînerait une légère accélération de la différenciation et, par conséquent, une persistance d'hémoglobine fœtale du fait d'un switch incomplet des gènes foetaux vers les gènes adultes comme on l'observe dans les situations de stress anémique (Stamatoyanopoulos 2005). On retrouve également, corrélé à une expression basse de MYB, un nombre diminué d'érythrocytes et un volume globulaire plus important chez des sujets sains, renforçant l'hypothèse d'une réduction de la phase de différenciation (Menzel et al, 2007a). Les haplotypes favorisant la persistance d'Hb F pourraient également être liés à la variabilité de la réponse aux inducteurs de synthèse d'Hb F (Kuroyanagi et al, 2006, Jiang et al, 2006).

Un QTL en 8q, identifié également à partir de l'étude de liaison de la même grande famille indienne, serait significativement lié au polymorphisme XmnI du locus beta-globine, suggérant une interaction entre le locus beta-globine et un gène putatif en 8q (Garner et al, 2002). Cette étude a été validée sur d'autres populations (Garner et al, 2004) mais pour l'instant aucun gène n'a été impliqué d'un point de vue fonctionnel.

Enfin, très récemment, un QTL a été caractérisé en 2p15 (Menzel et al, 2007b) par une étude d'association pangénomique chez des sujets sains. Trois études ultérieures réalisées sur d'importantes cohortes de malades beta-thalassémiques et drépanocytaires ainsi que de témoins, s'accordent pour montrer que plusieurs SNPs du gène *BCL11A*, situé dans cette région et codant pour un facteur de prolifération cellulaire, sont liés de façon très significative à des taux d'HbF élevés chez des sujets de différentes origines géographiques (Uda et al, 2008, Sedgewick et al, 2008, Lettre et al, 2008). Contrairement à MYB, *BCL11A* n'aurait pas une action globale sur la cinétique de différenciation cellulaire mais un rôle direct sur la régulation des gènes de globine fœtale, ce qui pourrait en faire une cible thérapeutique (Sankaran et al, 2008). Ce rôle direct n'est cependant

pas spécifique puisque *BCL11A* est aussi connu pour réguler la différenciation des lymphocytes (Liu et al, 2003).

## CONCLUSION

Les thalassémies sont des maladies monogéniques dont le tableau clinique peut varier modérément selon le degré d'hémolyse ou de dysérythropoïèse mais reste assez homogène et centré sur l'anémie. En revanche, la sévérité de ces syndromes peut être extrêmement variable d'un individu à l'autre, du fait de déterminants génétiques modulateurs multiples agissant sur l'équilibre entre les chaînes de globine ou sur la production d'hémoglobine fœtale. Les études récentes réalisées sur les 2 QTL majeurs situés dans le gène *BCL11A* et dans la région intergénique entre *HBSL1* et *MYB*, représentent une avancée majeure dans la compréhension des mécanismes de régulation de production de l'hémoglobine fœtale à l'âge adulte. En effet, les résultats ont été répliqués dans plusieurs études indépendantes, sur des populations d'origine géographiques différentes, d'individus sains, porteurs ou atteints d'hémoglobinopathies et montrent que les polymorphismes étudiés sont liés à une augmentation du taux d'Hb F mais aussi à une présentation clinique moins sévère (Uda et al 2008, Lettre et al, 2008). Il reste à étudier l'effet combiné de ces deux QTL et du polymorphisme du promoteur du gène *G-gamma* qui pourrait éventuellement offrir une possibilité d'application de ces marqueurs de sévérité en pratique clinique. Les progrès dans la caractérisation de l'ensemble des déterminants génétiques à l'origine de la persistance d'hémoglobine fœtale chez l'adulte auront très probablement dans un avenir proche, un impact important dans le développement de nouvelles approches thérapeutiques pharmacologiques ou géniques.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Badens C, Mattei MG, Imbert AM, Lapoumériou C, Martini N, Michel G, Lena-Russo D. A novel mechanism for thalassaemia intermedia. *Lancet*. 2002;359(9301):132-3.
- Camaschella C, Kattamis AC, Petroni D, Roetto A, Sivera P, Sbaiz L, Cohen A, Ohene-Frempong K, Trifillis P, Surrey S, Fortina P. Different hematological phenotypes caused by the interaction of triplicated alpha-globin genes and heterozygous beta-thalassaemia. *Am J Hematol*. 1997; 55(2):83-8.
- Chang YC, Smith KD, Moore RD, Serjeant GR, Dover GJ. An analysis of fetal hemoglobin variation in sickle cell disease: the relative contributions of the X-linked factor, beta-globin haplotypes, alpha-globin gene number, gender, and age. *Blood*. 1995;85(4):1111-7.
- Close J, Game L, Clark B, Bergounioux J, Gerovassili A, Thein SL. Genome annotation of a 1.5 Mb region of human chromosome 6q23 encompassing a quantitative trait locus for fetal hemoglobin expression in adults. *BMC Genomics*. 2004;5(1):33.
- Craig JE, Rochette J, Fisher CA, Weatherall DJ, Marc S, Lathrop GM, Demenais F, Thein S. Dissecting the loci controlling fetal haemoglobin production on chromosomes 11p and 6q by the regressive approach. *Nat Genet*. 1996;12(1):58-64.
- Dos Santos CO, Zhou S, Secolin R, Wang X, Cunha AF, Higgs DR, Kwiatkowski JL, Thein SL, Gallagher PG, Costa FF, Weiss MJ. Population analysis of the alpha hemoglobin stabilizing protein (AHSP) gene identifies sequence variants that alter expression and function. *Am J Hematol*. 2008; 83(2):103-8.
- Dover GJ, Smith KD, Chang YC, Purvis S, Mays A, Meyers DA, Sheils C, Serjeant G. Fetal hemoglobin levels in sickle cell disease and normal individuals are partially controlled by an X-linked gene located at Xp22.2. *Blood*. 1992;80(3):816-24.
- Efremov GD. Dominantly Inherited beta-Thalassaemia. *Hemoglobin*. 2007; 31(2):193-207.
- Forget BG. Molecular Genetics of the human globin genes. In :Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, editors. Disorders of hemoglobin : Genetics, Pathophysiology and clinical management. Cambridge, UK : Cambridge University Press, 2001. p. 117-30.
- Galanello R, Ruggeri R, Paglietti E, Addis M, Melis MA, Cao A. A family with segregating triplicated alpha globin loci and beta thalassaemia. *Blood*. 1983;62(5):1035-40.
- Galanello R, Perseu L, Perra C, Maccioni L, Barella S, Longinotti M, Cao A, Cazzola M. Somatic deletion of the normal beta-globin gene leading to thalassaemia intermedia in heterozygous beta-thalassaemic patients. *Br J Haematol*. 2004; 127(5):604-6.
- Garner C, Tatu T, Reittie JE, Littlewood T, Darley J, Cervino S, Farrall M, Kelly P, Spector TD, Thein SL. Genetic influences on F cells and other hematologic variables: a twin heritability study. *Blood*. 2000;95(1):342-6.
- Garner CP, Tatu T, Best S, Creary L, Thein SL. Evidence of genetic interaction between the beta-globin complex and chromosome 8q in the expression of fetal hemoglobin. *Am J Hum Genet*. 2002;70(3):793-9.
- Garner C, Silver N, Best S, Menzel S, Martin C, Spector TD, Thein SL. Quantitative trait locus on chromosome 8q influences the switch from fetal to adult hemoglobin. *Blood*. 2004;104(7):2184-6.
- Giampaolo A, Mavilio F, Sposi NM, Carè A, Massa A, Cianetti L, Petrini M, Russo R, Cappellini MD, Marinucci M. Heterocellular hereditary persistence of fetal hemoglobin (HPFH). Molecular mechanisms of abnormal gamma-gene expression in association with beta thalassaemia and linkage relationship with the beta-globin gene cluster. *Hum Genet*. 1984;66(2-3):151-6.
- Gianni AM, Bregni M, Cappellini MD, Fiorelli G, Taramelli R, Giglioli B, Comi P, Ottolenghi S. A gene controlling fetal hemoglobin expression in adults is not linked to the non-alpha globin cluster. *EMBO J*. 1983;2(6):921-5.
- Gibbons RJ, Picketts DJ, Villard L, Higgs DR. Mutations in a putative global transcriptional regulator cause X-linked mental retardation with alpha-thalassaemia (ATR-X syndrome). *Cell*. 1995;80(6):837-45.
- Gibbons RJ, Wada T, Fisher CA, Malik N, Mitson MJ, Steensma DP, Fryer A, Goudie DR, Krantz ID, Traeger-Synodinos J. Mutations in the chromatin-associated protein ATRX. *Hum Mutat*. 2008; 29(6):796-802.
- Hartevelde CL, Kriek M, Bijlsma EK, Erjavec Z, Balak D, Phylipsen M, Voskamp A, di Capua E, White SJ, Giordano PC. Refinement of the genetic cause of ATR-16. *Hum Genet*. 2007; 122(3-4):283-92.
- Hartevelde CL, Refaldi C, Cassinerio E, Cappellini MD, Giordano PC. Segmental duplications involving the alpha-globin gene cluster are causing beta-thalassaemia intermedia phenotypes in beta-thalassaemia heterozygous patients. *Blood Cells Mol Dis*. 2008;40(3):312-6.
- Jiang J, Best S, Menzel S, Silver N, Lai MI, Surdulescu GL, Spector TD, Thein SL. cMYB is involved in the regulation of fetal hemoglobin production in adults. *Blood*. 2006;108(3):1077-83.
- Kanavakis E, Traeger-Synodinos J, Lafioniatis S, Lazaropoulou C, Liakopoulou T, Paleologos G, Metaxotou-Mavrommati A, Stamoulakatou A, Papassotiropoulou I. A rare example that coinheritance of a severe form of beta-thalassaemia and alpha-thalassaemia interact in a "synergistic" manner to balance the phenotype of classic thalassaemic syndromes. *Blood Cells Mol Dis*. 2004 32(2):319-24.
- Kanavakis E. and Traeger-Synodinos J. Molecular Basis of Thalassaemia syndromes. In Disorders of iron, homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis. 2006; Editors : C. Beaumont, P ; Beris, Y. Beuzard, C. Brugnara. Forum Service Editore.
- Katsantoni EZ, de Krom M, Kong-a-San J, Imam AM, Grosveld F, Anagnou NP, Strouboulis J. An embryonic-specific repressor element located 3' to the Agamma-globin gene influences transcription of the human beta-globin locus in transgenic mice. *Exp Hematol*. 2004 32:224-33.
- Kihm AJ, Kong Y, Hong W, Russell JE, Rouda S, Adachi K, Simon MC, Blobel GA, Weiss MJ. An abundant erythroid protein that stabilizes free alpha-haemoglobin. *Nature*. 2002; 417(6890):758-63.
- Kuroyanagi Y, Kaneko Y, Muta K, Park BS, Moi P, Ausenda S, Cappellini MD, Ikuta T. cAMP differentially regulates gamma-globin gene expression in erythroleukemic cells and primary erythroblasts through c-Myb expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;344(3):1038-47.
- Labie D, Dunda-Belkhdja O, Rouabhi F, Pagnier J, Ragusa A, Nagel RL. The -158 site 5' to the G gamma gene and G gamma expression. *Blood*. 1985;66(6):1463-5.
- Lai MI, Jiang J, Silver N, Best S, Menzel S, Mijovic A, Colella S, Ragoussis J, Garner C, Weiss MJ, Thein SL. Alpha-haemoglobin stabilising protein is a quantitative trait gene that modifies the phenotype of beta-thalassaemia. *Br J Haematol*. 2006; 133(6):675-82.
- Lamb J, Wilkie AO, Harris PC, Buckle VJ, Lindenbaum RH, Barton NJ, Reeders ST, Weatherall DJ, Higgs DR. Detection of breakpoints in submicroscopic chromosomal translocation, illustrating an important mechanism for genetic disease. *Lancet*. 1989 7;2(8667):819-24.
- Lette G, Sankaran VG, Bezerra MA, Araújo AS, Uda M, Sanna S, Cao A, Schlessinger D, Costa FF, Hirschhorn JN, Orkin SH. DNA polymorphisms at the *BCL11A*, *HBS1L-MYB*, and beta-globin loci associate with fetal hemoglobin levels and pain crises in sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(33):11869-74.
- Liu P, Keller JR, Ortiz M, Tassarollo L, Rachel RA, Nakamura T, Jenkins NA, Copeland NG. *Bcl11a* is essential for normal lymphoid development. *Nat Immunol*. 2003;4(6):525-32.
- Luzzatto L, Notaro R. Haemoglobin's chaperone. *Nature*. 2002 Jun 13;417(6890):703-5.
- Martinez G, Novelletto A, Di Rienzo A, Felicetti L, Colombo B. A case of hereditary persistence of fetal hemoglobin caused by a gene not linked to the beta-globin cluster. *Hum Genet*. 1989 Jul;82(4):335-7.

- Menzel S, Jiang J, Silver N, Gallagher J, Cunningham J, Surdulescu G, Lathrop M, Farrall M, Spector TD, Thein SL. The HBS1L-MYB intergenic region on chromosome 6q23.3 influences erythrocyte, platelet, and monocyte counts in humans. *Blood*. 2007 15;110(10):3624-6. a
- Menzel S, Garner C, Gut I, Matsuda F, Yamaguchi M, Heath S, Foglio M, Zelenika D, Boland A, Rooks H, Best S, Spector TD, Farrall M, Lathrop M, Thein SL. A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosome 2p15. *Nat Genet*. 2007 ;39(10):1197-9. b
- Papassotiriou I, Traeger-Synodinos J, Vlachou C, Karagiorga M, Metaxotou A, Kanavakis E, Stamoulakatou A. Rapid and accurate quantitation of Hb Bart's and Hb H using weak cation exchange high performance liquid chromatography: correlation with the alpha-thalassaemia genotype. *Hemoglobin*. 1999;23(3):203-11.
- Patrinos, G.P., B. Giardine, C. Riemer, W. Miller, D.H.K. Chui, N.P. Anagnou, H. Wajcman, and R.C. Hardison. Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassaemia mutations for population and sequence variation studies. *Nucl. Acids Res* 2004 : 32 Database issue: D537-541
- Sankaran VG, Menne TF, Xu J, Akie TE, Lettre G, Van Handel B, Mikkola HK, Hirschhorn JN, Cantor AB, Orkin SH. Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor BCL11A. *Science*. 2008 ; 322(5909):1839-42.
- Sedgewick AE, Timofeev N, Sebastiani P, So JC, Ma ES, Chan LC, Fucharoen G, Fucharoen S, Barbosa CG, Vardarajan BN, Farrer LA, Baldwin CT, Steinberg MH, Chui DH. BCL11A is a major HbF quantitative trait locus in three different populations with beta-hemoglobinopathies. *Blood Cells Mol Dis*. 2008; 41(3):255-8.
- Shrier S. Pathophysiology of the thalassaemias. In *Disorders of iron, homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis*. 2006 ; Editors : C. Beaumont, P ; Beris, Y. Beuzard, C. Brugnara. Forum Service Editore.
- So CC, Song YQ, Tsang ST, Tang LF, Chan AY, Ma ES, Chan LC. The HBS1L-MYB intergenic region on chromosome 6q23 is a quantitative trait locus controlling fetal haemoglobin level in carriers of beta-thalassaemia. *J Med Genet*. 2008;45(11):745-51.
- Stamatoyannopoulos G. Control of globin gene expression during development and erythroid differentiation. *Exp Hematol*. 2005;33(3):259-71
- Thein SL, Sampietro M, Rohde K, Rochette J, Weatherall DJ, Lathrop GM, Demenais F. Detection of a major gene for heterocellular hereditary persistence of fetal hemoglobin after accounting for genetic modifiers. *Am J Hum Genet*. 1994; 54(2):214-28.
- Thein SL. Genetic modifiers of beta-thalassaemia. *Haematologica*. 2005;90(5):649-60.
- Thein SL, Menzel S, Peng X, Best S, Jiang J, Close J, Silver N, Gerovasilli A, Ping C, Yamaguchi M, Wahlberg K, Ulug P, Spector TD, Garner C, Matsuda F, Farrall M, Lathrop M. Intergenic variants of HBS1L-MYB are responsible for a major quantitative trait locus on chromosome 6q23 influencing fetal hemoglobin levels in adults. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(27):11346-51.
- Thein SL. Genetic modifiers of the beta-haemoglobinopathies. *Br J Haematol*. 2008 ;141,357-366.
- Traeger-Synodinos J, Kanavakis E, Vrettou C, Maragoudaki E, Michael T, Metaxotou-Mavromati A, Kattamis C. The triplicated alpha-globin gene locus in beta-thalassaemia heterozygotes: clinical, haematological, biosynthetic and molecular studies. *Br J Haematol*. 1996;95(3):467-71.
- Tufarelli C, Stanley JA, Garrick D, Sharpe JA, Ayyub H, Wood WG, Higgs DR. Transcription of antisense RNA leading to gene silencing and methylation as a novel cause of human genetic disease. *Nat Genet*. 2003; 34(2):157-65.
- Uda M, Galanello R, Sanna S, Lettre G, Sankaran VG, Chen W, Usala G, Busonero F, Maschio A, Albai G, Piras MG, Sestu N, Lai S, Dei M, Mulas A, Crisponi L, Naitza S, Asunis I, Deiana M, Nagaraja R, Perseu L, Satta S, Cipollina MD, Sollaino C, Moi P, Hirschhorn JN, Orkin SH, Abecasis GR, Schlessinger D, Cao A. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of beta-thalassaemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 105(5):1620-5.
- Viprakit V, Tanphaichitr VS, Chinchang W, Sangkla P, Weiss MJ, Higgs DR. Evaluation of alpha hemoglobin stabilizing protein (AHSP) as a genetic modifier in patients with beta thalassaemia. *Blood*. 2004;103(9):3296-9.
- Viprakit V, Hartevelde CL, Ayyub H, Stanley JS, Giordano PC, Wood WG, Higgs DR. A novel deletion causing alpha thalassaemia clarifies the importance of the major human alpha globin regulatory element. *Blood*. 2006; 107(9):3811-2.
- Weatherall DJ, Clegg JB, Naughton MA. Globin synthesis in thalassaemia: an in vitro study. *Nature*. 1965;208(5015):1061-5.
- Weatherall DJ, Higgs DR, Bunch C, Old JM, Hunt DM, Pressley L, Clegg JB, Bethlenfalvay NC, Sjolín S, Koler RD, Magenis E, Francis JL, Bebbington D. Hemoglobin H disease and mental retardation: a new syndrome or a remarkable coincidence? *N Engl J Med*. 1981;305(11):607-12.
- Weatherall DJ and Clegg JB. *The Thalassaemia Syndromes*. Blackwell Science, Oxford, 2001.
- Weatherall DJ. Thalassaemia: the long road from bedside to genome. *Nat Rev Genet*. 2004 5(8):625-31.