Pancytopenie sévère secondaire à un déficit en folates en dépit d'un dosage de folates érythrocytaires normal

Severe pancytopenia due to acute folate deficiency despite normal folate erythrocyte level

Antoine Huguenin¹

Sara Barraud¹

Sylvie Daliphard²

Didier Marot³

Roselyne Garnotel⁴

Firouzé Bani-Sadr¹

¹ Service de médecine interne et des maladies infectieuses et tropicales, CHU Reims, France
<ahuguenin@chu-reims.fr>

² Laboratoire d'hématologie, CHU Reims, France

³ Laboratoire central de biochimie, CHU Reims, France

⁴ Laboratoire de biologie et de recherche pédiatriques, CHU Reims, France

Résumé. Nous rapportons un cas de pancytopenie sévère avec dosage en folates sériques isolément bas contrastant avec des folates érythrocytaires et vitamine B12 normaux, chez un patient alcoolique. Le myélogramme montrait un aspect de moelle carentielle en ces vitamines. Ce cas met en lumière la possibilité de survenue d'une pancytopenie sévère secondaire à une carence en folates, en dépit d'un dosage normal de folates érythrocytaires, qui est un indicateur des apports en folates des 3 derniers mois (durée de vie du globule rouge) et donc des réserves de l'organisme.

Mots clés : *pancytopenie, déficit en folates, anémie mégalo-blastique, anomalies hématologiques liées à l'alcool*

Abstract. We report the case of an alcoholic patient with severe pancytopenia with low plasma folate level but normal erythrocyte folates and cobalamin levels. The bone marrow smear concluded to a pancytopenia due to folates and/or cobalamin deficiency. Severe pancytopenia due to acute plasma folate deficiency can be observed despite normal erythrocyte folates level which reflects the organism's folates store.

Key words: *pancytopenia, acute folate deficiency, megaloblastic anemia, alcohol-associated pancytopenia, alcohol-blood disorders*

Les pancytopenies chez le patient alcoolique sont le plus souvent secondaires à des carences en folates et/ou en vitamine B12. Nous rapportons un cas de pancytopenie sévère chez un patient ayant une consommation excessive d'alcool, avec des dosages en folates sériques bas, mais des dosages des folates érythrocytaires, indicateurs des apports en folates des 3 derniers mois (durée de vie du globule rouge) et donc des réserves de l'organisme, et en vitamine B12 normaux. Nous discutons des mécanismes mis en jeu dans la constitution d'une pancytopenie chez le patient alcoolique.

L'observation

Monsieur D, âgé de 36 ans, consultait pour une altération de l'état général avec anorexie et amaigrissement de 5 kg depuis 3 semaines. L'examen était sans particularité

en dehors d'une pâleur cutanéomuqueuse. Le patient était apyrétique et ne présentait pas d'hépatosplénomégalie ni d'adénopathie. Dans ses antécédents, on notait une toxicomanie par voie nasale substituée par buprénorphine et une consommation d'alcool de l'ordre de 700 grammes par jour. Le bilan biologique montrait une pancytopenie avec une anémie fortement macrocytaire (hémoglobine à 46 g/L et VGM à 118 fL), une thrombopénie à 57 G/L et une leucopénie à 2,2 G/L avec des polynucléaires neutrophiles à noyau hypersegmenté (*figure 1*). Les réticulocytes étaient à 7 G/L, l'haptoglobine inférieure à 0,07 g/L et les LDH à 10 160 UI/L. Le dosage de la vitamine B12 (Elecsys B12 assay - Cobas 8000 Roche) était normal à 201 pg/mL (N : 191-663). Les folates érythrocytaires (Elecsys Folate/RBC III Cobas 8000 Roche) étaient à la limite inférieure de la normale : 437 ng/mL (N : 438-1 070), la ferritinémie était à 239 µg/L (N : 20-290). Les folates sériques (Elecsys Folate III Cobas 8000 Roche) étaient bas à 1,80 ng/mL (N : 4,6-18,7 ng/mL)

avec une homocystéine totale élevée à 118 $\mu\text{mol/L}$ (chromatographie d'échange ionique, 5-15 $\mu\text{mol/L}$ compte tenu de l'âge [1]). Le dosage de l'acide méthylmalonique sérique (chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [2]) ne montrait pas d'élévation ($<100 \text{ nmol/L}$, cut-off $< 500 \text{ nmol/L}$). L'albuminémie était basse à 33 g/L (N : 33-52 g/L) avec une préalbumine à 0,18 g/L (N : 0,2-0,4 g/L) témoignant d'une dénutrition. Le bilan hépatique, la créatinémie, la CRP, la TSH, et la cortisolémie (à 8 heures) étaient normaux. Les anticorps anti-facteur intrinsèque (Elisa et immunodot) étaient négatifs.

Le myélogramme montrait un gigantisme des 3 lignées myéloïdes avec une hyperplasie érythroblastique et des signes de dysérythropoïèse de type mégalo blastose (figure 2). La lignée granuleuse était modérément diminuée et comportait des métamyélocytes géants et des

Figure 1. Frottis sanguin : présence de polynucléaires neutrophiles à noyaux hyperlobés.

Figure 2. Myélogramme : hyperplasie érythroblastique avec dysérythropoïèse, présence de proérythroblastes (1) et de métamyélocytes (2) géants.

polynucléaires à noyau hypersegmenté. La lignée mégacaryocytaire était en quantité normale et comportait des mégacaryocytes à noyau hypersegmenté. Il n'était pas observé de sidéroblastes anormaux. La fibroscopie œso-gastroduodénale était sans anomalies.

L'arrêt de l'alcool et un traitement par vitamine B12 par voie intramusculaire 1 mg/jour pendant 9 jours et par acide folique *per os* 10 mg par jour pendant six semaines permettait une normalisation complète du bilan biologique en 4 semaines.

Le patient était revu quatre mois après sevrage complet de l'alcool et arrêt des apports vitaminiques. Les dosages vitaminiques étaient normaux avec une homocystéinémie à 7,5 $\mu\text{mol/L}$ et un dosage d'acide méthylmalonique urinaire à 1 $\mu\text{mol/mmol}$ de créatinine (valeur de référence : $< 5 \mu\text{mol/mmol}$ de créatinine). Le diagnostic finalement retenu était une anémie mégalo blastique liée à une carence en folates dans un contexte de consommation excessive d'alcool.

Discussion

Chez ce patient présentant une pancytopenie sévère avec anémie macrocytaire, arégénérative et hémolyse intramédullaire, le myélogramme montrait un aspect typique d'anémie mégalo blastique secondaire à une carence en vitamine B12 et/ou folates : hyperplasie érythroblastique de type mégalo blastose associée à des anomalies de la lignée granuleuse neutrophile et mégacaryocytaire compatibles avec une anomalie de synthèse de l'ADN. La présence d'une macrocytose importante associée à des polynucléaires hypersegmentés sur le frottis sanguin était déjà évocatrice d'une anémie mégalo blastique [3]. Le patient présentait une carence en folates, en dépit d'un dosage normal de folates érythrocytaires, témoin des réserves de l'organisme, et d'un dosage de vitamine B12 normal. La normalisation complète de l'hémogramme était obtenue après traitement par acide folique et vitamine B12 et arrêt total de l'alcool.

Des cas de pancytopenie ou d'anémie mégalo blastique avec dosage en folates sériques et érythrocytaires et vitamine B12 normaux ont déjà été rapportés chez des patients alcooliques [4, 5]. Ainsi dans une série de 101 patients avec anémie mégalo blastique, 4 % des patients avaient des dosages en folates sériques et érythrocytaires normaux ainsi qu'en vitamine B12. L'anémie était corrigée après traitement par vitamine B12 chez tous les patients [4]. Le rôle d'un déficit fonctionnel de la vitamine B12 était évoqué [4]. Le rôle d'une toxicité médullaire directe de l'alcool sur les précurseurs érythroïdes, indépendamment d'une carence vitaminique est également évoqué chez ces patients. En effet, des cas de récurrence de pancytopenie à la reprise de

l'alcool ont été décrits. Le myélogramme peut montrer parfois un excès d'hemosidérine, la présence de sidéroblastes à plus de 3 grains et quelques sidéroblastes en couronne en faible pourcentage. L'arrêt de l'alcool seul peut permettre une correction de la pancytopenie [5-8].

Des carences en folates sont également observées au cours de l'éthylisme chronique, secondaires à l'activité de l'enzyme alcool déshydrogénase qui interfère avec le métabolisme des folates. Une séquestration intra-hépatocyttaire des folates avec interruption aiguë de la circulation entéro-hépatique du méthyltétrahydrofolate a également été suggérée [9].

Par ailleurs, des dosages normaux d'acide folique et de vitamine B12 ne doivent pas faire écarter une éventuelle carence vitaminique. La grande dispersion des concentrations sériques de ces deux vitamines retrouvées dans une population normale montre une importante variabilité inter-individuelle qui ne facilite pas l'interprétation des valeurs de cut-off pour la détection d'une carence. Le dosage des folates érythrocytaires peut être faussé dans de nombreuses situations : grossesse, alcoolisme, polymorphisme C677T de la méthylène tétrahydrofolate réductase, carence en vitamine B12, variations de l'hématocrite [10, 11]. Les folates sériques sont considérés comme un indicateur des apports récents en folates, il a cependant été démontré que lors d'un régime enrichi en folates, ceux-ci pouvaient mettre 9 semaines à atteindre un plateau [11]. En outre, le dosage des folates sériques est techniquement plus simple et semble soumis à moins de variabilité analytique. Un essai international réalisé dans 20 laboratoires retrouvait ainsi une variabilité analytique de 27,6 % pour les dosages des folates sériques et de 35,7 % pour ceux des folates érythrocytaires [12]. Cependant, aucun de ces deux marqueurs n'a fait la preuve de sa supériorité en routine. Chez notre patient, la normalité des folates érythrocytaires pourrait être ainsi expliquée par un artefact analytique.

Le dosage de la vitamine B12 a également une faible sensibilité. En effet, des études récentes ont rapporté des cas de maladie de Biermer avec des dosages de vitamine B12 normaux et ont alerté les cliniciens sur la faible sensibilité de ce dosage [13-15]. L'utilisation de nouveaux tests depuis les années 2000 (par une technique dite de *competitive-binding luminescence* - technique utilisée chez notre patient) semble être associée à un risque plus élevé de faux positifs ou négatifs comparée au dosage de vitamine B12 par dilution radio-isotopique utilisé auparavant [14]. Ces techniques de dosage par compétition utilisent du facteur intrinsèque exogène rajouté *in vitro* pour capturer la vitamine B12 de l'échantillon. La présence d'anticorps anti-facteur intrinsèque interfère avec le facteur intrinsèque exogène aboutissant à des concentrations faussement élevées ou normales. Depuis 2004, le prétraitement de l'échantillon a été modifié sur le kit utilisé (Elecys

Folate III/RBC Roche Diagnostics) pour intégrer un agent dénaturant qui déstructure les protéines de l'échantillon. Néanmoins, le dosage de la vitamine B12 sérique reste peu sensible et peu spécifique avec un taux de faux positifs ou de faux négatifs supérieur à 50 % [15]. Il est à noter que chez notre patient, le dosage normal de vitamine B12 ne s'expliquait pas par la présence d'anticorps anti-facteur intrinsèque [13-16]. Par ailleurs, de nombreuses situations (syndromes myéloprolifératifs, cancers, alcoolisme chronique, hépatopathies...) peuvent être responsables d'une augmentation de la vitamine B12 paradoxalement associée à de véritables signes de carence (carence fonctionnelle) [17]. En cas de suspicion de carence en vitamine B12 avec un dosage normal, le dosage d'acide méthylmalonique sérique peut être contributif [15, 18, 19]. Les concentrations sériques d'acide méthylmalonique s'élèvent avant que la concentration sérique de vitamine B12 diminue mais restent normales en cas de carence en folates [15, 18, 20, 21]. Une concentration plasmatique supérieure à 500 nmol/L est spécifique d'une carence en vitamine B12 ; 86 % des patients ayant une anémie ou une myélopathie secondaire à une carence en vitamine B12 ont des concentrations d'acide méthylmalonique supérieures à 1 000 nmol/L [15]. Le dosage urinaire de l'acide méthylmalonique est également très sensible et augmente précocement avant la diminution de la concentration sérique de vitamine B12 [10].

Un dosage de l'homocystéinémie peut être également contributif. L'augmentation de l'homocystéine s'observe à la fois en cas de carence en vitamine B12 et en folates mais est plus modérée en cas de déficit en folates [3, 10, 15]. Chez notre patient, le dosage sérique de l'acide méthylmalonique avant traitement vitaminique était normal et une homocystéinémie très augmentée corroborait l'hypothèse d'une carence en folates.

La réponse à la vitaminothérapie et l'absence d'antécédents personnels et familiaux rendait peu probable une anomalie congénitale de l'absorption ou du métabolisme de la vitamine B12 ou des folates. Par ailleurs, le patient ne prenait aucun médicament connu pour induire une anémie mégaloblastique indépendamment des réserves en B12 et folates tel que les anticonvulsivants, les analogues des purines (acyclovir...) ou des pyrimidines [3]. Il ne rapportait pas non plus d'usage « récréatif » du protoxyde d'azote, pouvant parfois donner des tableaux neurologiques de carence en B12 ou d'anémie mégaloblastique avec des dosages normaux [22, 23].

Conclusion

Un tableau de pancytopenie sévère peut s'observer en cas de carence aiguë en folates et ce en dépit d'un dosage normal en folates érythrocytaires. La survenue d'une pancytopenie

nie sévère alors que les réserves en folates de l'organisme semblent normales pourrait s'expliquer : 1) par la faible sensibilité et faible spécificité des dosages de vitamine B12 et de folates sériques ou érythrocytaires ; 2) par une carence « fonctionnelle » en ces vitamines ; 3) par le rôle d'une toxicité médullaire directe de l'alcool sur les précurseurs érythroïdes, indépendamment d'une carence vitaminique.

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

1. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, *et al.* Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004 ; 50 : 3-32.
2. Rifai N, Hagen T, Bradley L, Sakamoto M. Determination of serum physiological concentration of methylmalonic acid by gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring. *Ann Clin Biochem* 1998 ; 35 : 633-6.
3. Wickramasinghe SN. Diagnosis of megaloblastic anaemias. *Blood Rev* 2006 ; 20 : 299-318.
4. Fragasso A, Mannarella C, Ciancio A, Sacco A. Functional vitamin B12 deficiency in alcoholics: an intriguing finding in a retrospective study of megaloblastic anemic patients. *Eur J Intern Med* 2010 ; 21 : 97-100.
5. Ballard HS. Alcohol-associated pancytopenia with hypocellular bone marrow. *J Clin Pathol* 1980 ; 73 : 830-4.
6. Imashuku S, Kudo N, Kaneda S. Spontaneous resolution of macrocytic anemia: old disease revisited. *J Blood Med* 2012 ; 3 : 45-7.
7. Lindenbaum J, Roman MJ. Nutritional anemia in alcoholism. *Am J Clin Nutr* 1980 ; 33 : 2727-35.
8. Savage D, Lindenbaum J. Anemia in alcoholics. *Medicine* 1986 ; 65 : 322-38.
9. Clarke V, Weston-Smith S. Severe folate-deficiency pancytopenia. *BMJ Case Rep* 2010 ; 2010 : 2851-61.
10. Carmel R, Green R, Rosenblatt DS, Watkins D. Update on cobalamin, folate, and homocysteine. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2003 : 62-81.
11. Farrell CJ, Kirsch SH, Herrmann M. Red cell or serum folate: what to do in clinical practice ? *Clin Chem Lab Med* 2013 ; 51 : 555-69.
12. Gunter EW, Bowman BA, Caudill SP, Twite DB, Adams MJ, Sampson EJ. Results of an international round robin for serum and whole-blood folate. *Clin Chem* 1996 ; 42 : 1689-94.
13. Yang DT, Cook RJ. Spurious elevations of vitamin B12 with pernicious anemia. *N Engl J Med* 2012 ; 366 : 1742-3.
14. Carmel R, Agrawal YP. Failures of cobalamin assays in pernicious anemia. *N Engl J Med* 2012 ; 367 : 385-6.
15. Stabler SP. Clinical practice. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med* 2013 ; 368 : 149-60.
16. Boven LA, van Wijnen M. False normal vitamin B12 levels caused by assay error. *Blood* 2011 ; 118 : 492-502.
17. Andres E, Serraj K, Zhu J, Vermorken AJM. The pathophysiology of elevated vitamin B12 in clinical practice. *QJM* 2013 ; 106 : 505-15.
18. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem* 2000 ; 46 : 1277-83.
19. Dali-Youcef N, Andrès E. An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM* 2009 ; 102 : 17-28.
20. Selhub J, Morris MS, Jacques PF. In vitamin B12 deficiency, higher serum folate is associated with increased total homocysteine and methylmalonic acid concentrations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007 ; 104 : 19995-20000.
21. Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr* 2011 ; 94 : 348S-58S.
22. Nunn JF, Sharer NM, Gorchein A, Jones JA, Wickramasinghe SN. Megaloblastic haemopoiesis after multiple short-term exposure to nitrous oxide. *Lancet* 1982 ; 1 : 1379-81.
23. Shaw A, Morgan M. Nitrous oxide: time to stop laughing ? *Anaesthesia* 1998 ; 53 : 213-5.