

UE 8 Nutrition
Pr JC Deybach
Le 07/10/2016 à 13h30 – 15h30
Ronéotypeur: Madalin DOBRE
Ronéolecteur: Adrien OULHEN

COURS N°4

HEME ET PORPHYRIE HEREDITAIRE

SOMMAIRE

1. L'HEME

- a) Biosynthèse
- b) Regulation de la biosynthèse

2. Les Porphyrines

- a) Classification et caractéristiques génétiques
- b) Caractéristiques bio-cliniques

3. Porphyrines hépatiques aiguës

- a) Cas cliniques
- b) Caractéristiques cliniques
- c) Diagnostique biologique
- d) Traitements
- e) Physiopathologie de la crise aiguë
- f) Facteurs déclenchants
- g) Génétique
- h) Les nouvelles voies thérapeutiques

1. L'HEME

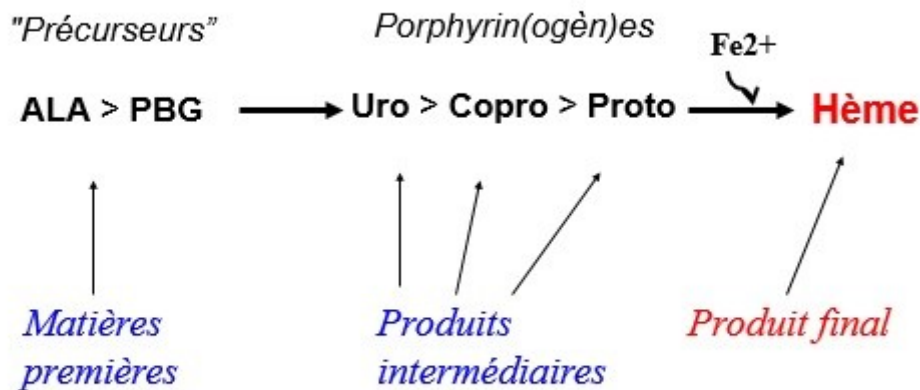
a) Biosynthèse de l'hème

La nature utilise 4 dérivés tétrapyrrolés majeurs : la chlorophylle (le pigment vert siégeant dans les plantes), l'hème (la substance responsable de la coloration rouge du sang), le coenzyme F430 (un pigment jaune présent chez certaines bactéries) et la vitamine B12 (un pigment rouge impliqué dans le métabolisme).

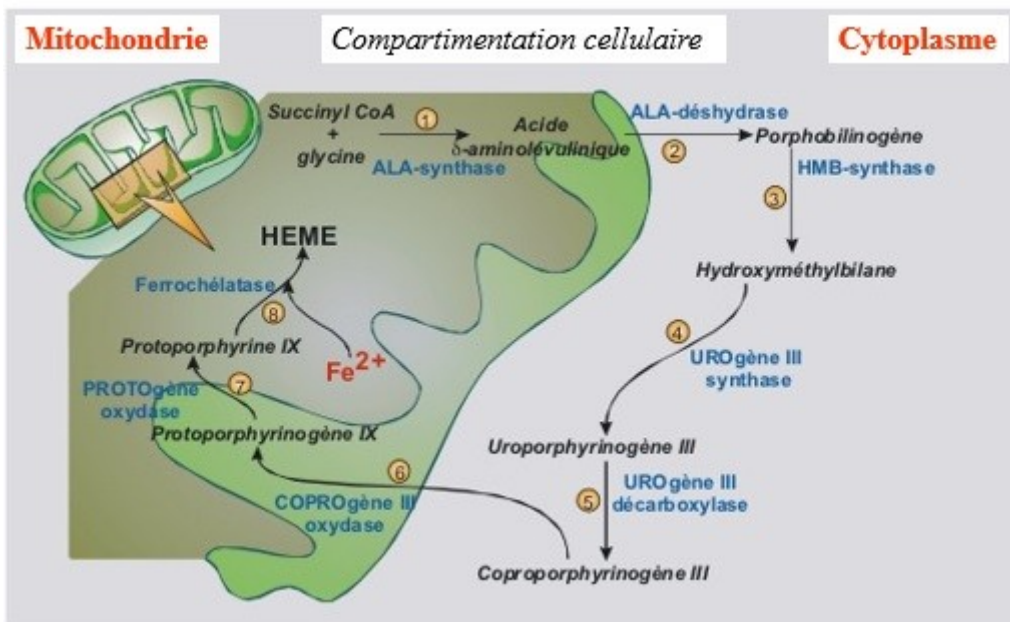
Ces dérivés appartiennent à la famille de composés, issus de l'**UROPORPHYRINOGENE III**, qui ont reçu le nom de "pigments vitaux". Les composés de cette famille sont tous des tétrapyrrolés modifiés.

L'HEME est une molécule organique cyclique contenant un atome de Fe^{2+} qui entre dans la composition de plusieurs hémoprotéines tels que l'hémoglobine/myoglobine (il assure le transport et le stockage de l'oxygene), cytochromes (il fournit des électrons), les cytochromes P450 (il permet la détoxification hépatique), la catalase/ peroxydase (rend le métabolisme du peroxyde d'hydrogène possible) etc.

Vue d'ensemble de la biosynthèse de l'hème



ALA : Acide delta-aminolévulinique PBG : Porphobilinogène



L'hème est le groupe prosthétique de nombreuses protéines dont l'hémoglobine, d'où sa production principalement médullaire (80% et cette production se fait de manière continue). Environ 15% de la production est assurée par le foie (elle se réalise à la demande). La voie de biosynthèse de l'hème se déroule dans 2 compartiments cellulaires : le cytosol et la mitochondrie par la condensation d'une molécule de Succinyl – CoA et d'une Glycine pour former l'ALA. Cette première étape est catalysée par l'enzyme ALA synthase (ALAS). Deux isoformes de l'enzyme sont connus, l'un ubiquitaire (que l'on retrouve dans le foie et dans toutes les autres cellules) codé par le gène ALAS1 qui se trouve sur le chromosome 3 et l'autre érythroïde spécifique, codé par le gène ALAS2 qui se trouve sur le chromosome X. Dans le cytosol, 2 molécules d'ALA forment une molécule de PBG. L'ALA et le PBG sont les précurseurs des porphyrinogènes et porphyrines. Ces molécules sont structurées en macrocycles tétrapyrroliques et diffèrent par leurs chaînes latérales. La deuxième étape est catalysée par l'ALA – déshydrase qui est codé par un gène qui se trouve sur le chromosome 9. Dans ce gène il y a 2 promoteurs: un érythroïde (E) et un autre non érythroïde (NE). L'enzyme qui catalyse la troisième réaction PBG-synthase est codé par un gène qui se trouve sur le 11^{ème} chromosome et qui est également sous le contrôle des deux promoteurs. Un épissage modifie les 2 principaux transcrits et contribue à la production de 2 formes d'ARNm. La transcription ubiquitaire entamée à partir du promoteur NE englobe l'exon 1 et les exons 3 à 15. Le transcrit érythropoïétique spécifique initié à partir du promoteur E regroupe les exons de 2 à 15. Cela induit, après traduction, la formation de 2 isoformes de protéines qui diffèrent par leurs extrémités N-terminales (protéine ubiquitaire: 361 acides aminés; protéine érythroïde: 344 acides aminés). L'étape finale de la biosynthèse de l'hème consiste en l'insertion d'un atome de fer ferreux dans une molécule de Protoporphyrine IX par l'enzyme Ferrochélatase.

b) Régulation de la biosynthèse

bi) Régulation de la biosynthèse érythroïde de l'hème

!!!!La régulation de la biosynthèse érythroïde de l'hème

L'hème synthétisé dans le tissu érythroïde représente 80% de l'hème total et il a une seule finalité: entrer dans la composition de l'hémoglobine. La biodisponibilité en Fer à l'intérieur de la cellule représente le point clé de la régulation de la synthèse de l'hème. Il agit à 2 endroits différents. D'abord sur le récepteur à la Transferrine (TF-r) en inhibant sa synthèse via le système IRE/IRP. Ensuite il agit sur la quantité d'enzyme ALAS2 en stabilisant l'ARNm qui code pour cette enzyme grâce au même système IRE/IRP.

Les IRE (Iron Regulatory Element) sont des structures tige boucle présentes dans les régions non traduites 5' ou 3' d'ARN messagers. Elles sont reconnues par des protéines spécifiques les IRP (Iron Responsive Protein). Quand une protéine IRP se fixe sur l'IRE en 5' d'un ARNm il empêche sa traduction, tandis que fixé en 3' il le stabilise. Les IRP sont elles-mêmes régulées par la concentration en Fer cytosolique: en effet en présence de fer, IRP1 acquiert un centre fer/soufre, devient une aconitase et ne peut plus se fixer sur les IRE tandis qu'IRP2 est dégradée par le protéasome. En cas de carence en fer, le système IRP/IRE va ainsi limiter l'utilisation et la sortie du Fer de la cellule tout en favorisant son absorption. La biosynthèse érythroïde d'hème dépend de la concentration cytosolique de fer: ainsi l'ARNm ALAS2 n'est traduit que quand le fer nécessaire à la production de l'hème est présent.

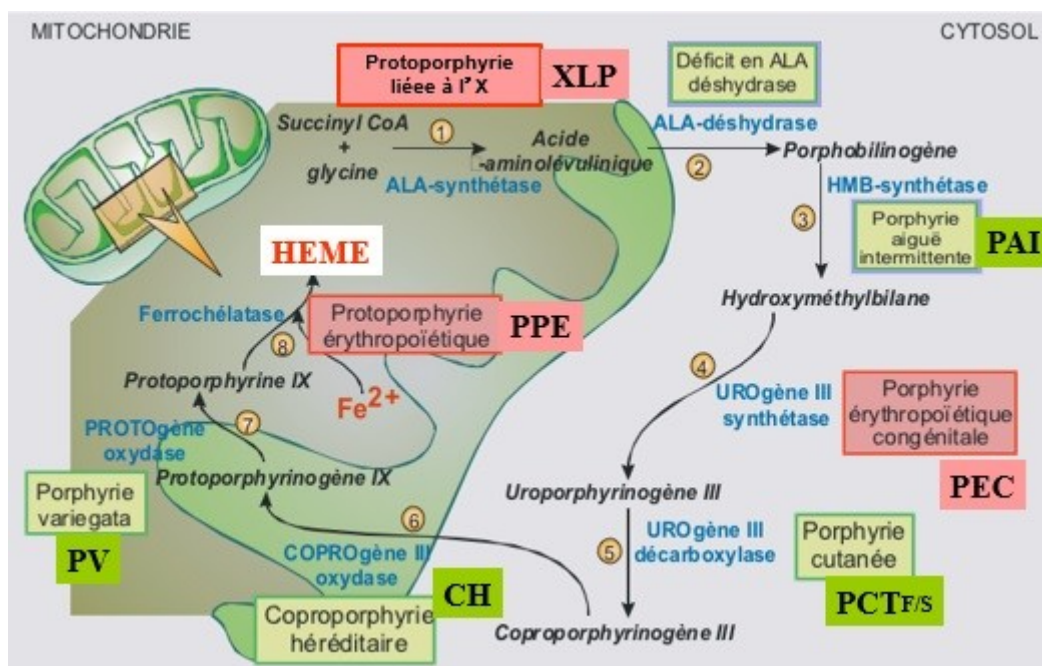
bii) Régulation de la synthèse hépatique de l'hème

Cette fois-ci ce n'est plus le Fer qui est au centre du système de régulation mais c'est l'hème. La biosynthèse hépatique de l'hème donne naissance aux cytochromes P450 (65% et leur production est inductible), aux cytochromes mitochondriaux (15%) ainsi qu'à d'autres hémoprotéines. L'activité de la première enzyme ALAS1 est soumise au rétrocontrôle négatif de l'hème qui se fait à plusieurs niveaux. Elle se fait au niveau de la transcription l'ADN via les HRE (Heme Responsive Element), au niveau de l'ARNm en agissant sur la stabilité, et au niveau post-transcriptionnel. Dans tous ces cas il y a un effet inhibiteur. Au niveau post-transcriptionnel il y a d'abord une inhibition du transfert mitochondrial de la Pré ALAS1 grâce à la HRM (Heme Regulatory Motif) et ensuite une rétro-inhibition directe de l'activité de la ALAS1.

Il convient de noter que l'hème est l'unique source de CO (monoxyde de carbone), auquel elle donne naissance lors de sa dégradation par l'Hème Oxydase (HO). De plus il faut noter que c'est dans la cellule hépatique qu'on trouve le catabolisme de l'hème.

2. Les Porphyrries

Les porphyries sont un groupe de 8 maladies génétiques rares (1/50.000) de la chaîne de biosynthèse de l'hème. Elles résultent d'anomalies, 7 déficits et 1 gain de fonction, des activités des enzymes de la chaîne de biosynthèse de l'hème dues à des mutations des gènes correspondants. Les porphyries se caractérisent par une accumulation (dans le foie et la moelle) et une élimination accrue (dans le sang, les urines et les selles) des porphyrines et de composés précurseurs: ALA et PBG. Chaque type de porphyrie est la conséquence d'un déficit en l'une des enzymes impliquées dans la biosynthèse de l'hème.



a) Classification et caractéristiques génétiques

Les 8 types de porphyries peuvent être classés en 2 groupes selon le siège tissulaire prédominant du trouble métabolique: porphyries hépatiques (PAI, PCT familiale et sporadique, CH, PV, déficit en ALA déshydrase) et porphyries érythropoïétiques (XPL, PEC, PPE). Les porphyries hépatiques sont autosomiques dominantes et affectent les adultes et celles érythropoïétiques sont récessives et touchent les enfants.

b) Caractéristiques bio-cliniques

Les signes cliniques qu'on rencontre le plus souvent sont les crises aiguës neuro-viscérales liées à l'accumulation des précurseurs ALA/PBG : PAI, CH, PV (qui sont des porphyries hépatiques) mais également les lésions cutanées photo induites (photo dermatose bulleuse ou aligues) liés à l'accumulation des porphyrines: PCT f/s et les 3 porphyries érythropoïétiques.

La plupart des porphyries vont se manifester à cause des facteurs déclenchants qui ont précipité leurs apparition. Ces facteur déclenchants peuvent être endogènes (hormones) et exogènes : stress (déclenche l'augmentation de l'activité de HO qui dégrade l'hème. Or à cause d'un déficit d'enzyme sa synthèse se fait déjà lentement. Donc le stress va accentuer le problème et il pourra déclencher la maladie), médicaments, infections, lumière, etc.

L'expression clinique des porphyries est polymorphe et variable

Classification clinique des 8 porphyries:

PORPHYRIES AIGUËS

Porphyries par déficit en ALAD (très rare)
PAI (la plus fréquente parmi les porphyries graves)
CH
PV

PORPHYRIES CUTANÉES BULLEURSE/EROSIVES

PCT f/s (fréquente mais pas grave)
PEC (traitement par greffe de moelle osseuse avec un succès dans 95% des cas)

PORPHYRIES CUTANÉES PHOTO-ALGIQUES

PPE (mutation perte de fonction)
XLP (mutation gain de fonction)

Dans la XLP on n'observe pas une accumulation d'hème car il y a des mécanismes dans la cellule qui protègent contre une telle accumulation car elle serait toxique pour l'organisme. On va donc observer une accumulation de Protoporphyrine IX. Cette molécule est photo-sensible ce qui explique les signes cliniques cutanés.

La PPE se caractérise par une Ferrochélatase qui fonctionne très mal (maladie récessive et le gène présente des mutation perte de fonction), on va donc observer une accumulation de Protoporphyrine IX. Donc la XLP et PPE présentent les même signes cliniques malgré le fait que les enzymes touchées par ces pathologies se trouvent à l'opposé de la chaîne de biosynthèse de l'hème.

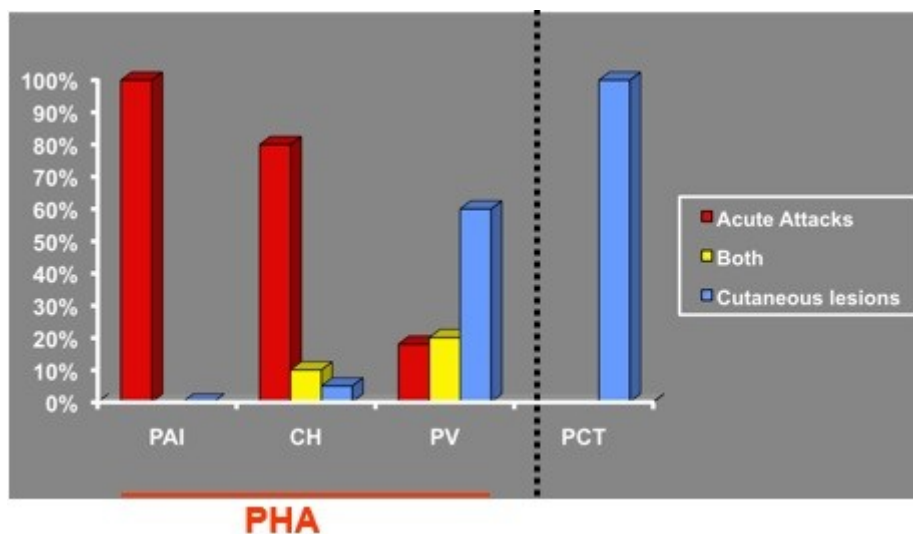
3. Porphyries hépatiques aiguës

a) Cas cliniques

ai) Mlle C, 19 ans se présente en Janvier aux urgences de Louis Mourrier avec des douleurs abdominales intenses, des nausées assez fortes et des vomissements. L'examen clinique est négatif sauf une tachycardie sans fièvre. Les imageries de l'abdomen sont négatives, seul doute à l'échographie, un kyste ovarien (assez fréquent chez les jeunes filles). Les examens biologiques sont normaux à part une natrémie basse. Aucun antécédent familiale notable. A sa sortie des urgences aucun diagnostic n'est posé on remarque juste un forte agitation nerveuse. On la transfère donc en chirurgie ; où elle sera traitée par un tranquillisant et sortira de l'hôpital. Pendant les 3 mois suivants, elle souffre de douleur abdominales intenses et récurrentes (surtout en période lutéale càd avant les règles) et soulagée uniquement par des opiacés (morphine). On observe aussi pendant cette période une constipation forte, une tachycardie et une hypertension anormale pour son âge. Elle a aussi perdu 10 kg. Aucun diagnostic n'est posé dans les nombreux hôpitaux qu'elle fréquente (seuls diagnostics : histrionisme ; ou encore toxicomane du à la morphine qu'elle vient demander pour calmer ses douleurs.). En avril à Beaujon au service de gynéco-obstétrique, Mlle C a encore des douleurs abdominales intenses et récurrentes, examen clinique et imagerie négative ; la cœlioscopie exploratrice révèle seulement le petit kyste ovarien (qui n'explique en rien les douleurs). Un jeune interne de bichat évoque la porphyrie aiguë. Il envoie les urines de la patiente au centre français des porphyries (CFP), qui effectue un dosage de l'acide delta-aminolevulinique (ALA) et du porphobilinogène (PBG) qui sont tout deux très fortement augmentés. Le diagnostic de crise aiguë de porphyries est confirmé. Ils traitent ensuite la patiente en urgence par hémine humaine (Normosang®) et la crise sera résolue en 4 jours. On diagnostiquera ensuite une porphyrie aiguë intermittente (PAI) par déficit partiel (50%) en PBG désaminase (ou HMBS). Évolution à long terme de la patiente : elle souffre de crise récurrente tous les 8j environs, traitée par hémine humaine en hôpital de jour (HDJ). Elle est actuellement dans l'attente d'un traitement par siRNA.

aii) Mme M. 25 ans, qui a des douleurs récurrente depuis 14 mois toujours en période lutéale. Arrivée à l'hôpital, on lui diagnostic un volvulus intermittent du cæcum (cæcum mal fixé qui se balade dans l'abdomen ; diagnostic assez rare) on réalise un hémi-colectomie droite (on retire la moitié du colon). Le diagnostic de porphyrie à été envisager mais que les urines n'ont pas été envoyer au CFP. La dame se retrouve après l'opération en réanimation, tétraplégique, hyperalgique. Le diagnostic de porphyrie est réalisé 6j après dans le service de réanimation. Récupération lente après traitement par hémine humaine (Normosang®). Évolution à long terme : crises abdominales récurrentes (tous les 8 à 10 jours) et des douleurs neurogènes aux épaules et dans les membres supérieurs. Problème : le Normosang® est de moins en moins efficace. On effectue une transplantation hépatique à cette patiente qui aura des bonnes conséquences : une normalisation des concentration en ALA et en PBG urinaire, plus de crise abdominale, mais une persistance de douleurs neurogènes.

b) Caractéristiques cliniques



Les 4 formes de porphyries hépatiques sont ici présentées en fonction de la fréquence du type de symptomatologie clinique. Comme nous l'avons vu précédemment, ces affections peuvent se manifester par des symptômes aigus ou des lésions cutanées ou les deux associés. Toutes les porphyries aiguës intermittentes (PAI) donnent lieu à des symptômes aigus. La CH se manifeste essentiellement par des symptômes aigus, mais, chez moins de 15% des patients, elle peut se traduire par des lésions cutanées ou par les deux types de symptômes associés. La majorité des patients atteints de PV présente à la fois des lésions cutanées et des symptômes aigus. Certains patients peuvent toutefois ne présenter que l'un des deux types de symptômes.

La crise aiguë de porphyrie survient le plus souvent chez la femme jeune (80% des patients sont des femmes, la plupart d'entre elles étant âgées de 20 à 45 ans) et plus rarement chez l'homme (20%). Les symptômes majeurs sont les douleurs abdominales et le risque de neuropathie ne doit pas être négligé. Les facteurs déclenchants sont le jeûne, les infections, le cycle hormonal, les médicaments, l'alcool, le stress et le choc affectif. Lors de la crise aiguë l'hème n'exerce plus un rétrocontrôle négatif sur ALA-S1 et par conséquent l'enzyme va fonctionner à plein régime. La faiblesse musculaire peut s'expliquer par le fait que le Succinyl-CoA ne sera plus utilisé dans le cycle de Krebs pour faire de l'ATP mais sera utilisé par ALA-S1.

• Douleurs abdominales et lombaires	98 %
• Vomissements, Constipation	72
• Faiblesse musculaire	68
• Tachycardie	62
• Insomnie, anxiété, agitation	60
• Hypertension artérielle	45
• Convulsions	15
• Paralysies	10
• HypoNatrémie	65
• Urines colorées/rouges*	80

Les principales anomalies cliniques communes aux différents types de porphyries hépatiques aiguës peuvent être classées en fonction de leur fréquence de survenue. La quasi-totalité des crises porphyriques aiguës donne lieu à une douleur abdominale. La coloration rouge des urines constitue également un symptôme très important ainsi que les hyponatrémies.

La crise aiguë de porphyrie est une neuropathie avec des atteintes du système neuro-végétatif (ce qui provoque des douleurs abdominales, constipation, vomissements, hypertension et tachycardie), du système nerveux périphérique (ce qui va provoquer des neuropathies motrices et des douleurs des extrémités) et du système nerveux central (ce qui provoque des troubles psychiatriques tels que l'anxiété, les hallucinations et l'agitation mais aussi des crises d'épilepsie).

L'atteinte du système nerveux périphérique est due à une axonopathie métabolique porphyrique qui provoque des atteintes des nerfs proximaux. En histologie on observe une dégénérescence axonale primitive avec démyélinisation secondaire et des nodules de régénération.

c) Diagnostique biologique

Les crises aiguës sont confirmées par une nette augmentation (10 à 50 fois plus élevée que la normale) des taux urinaires d'ALA et de PBG. Le diagnostic a une sensibilité et une spécificité supérieure à 90%.

Le diagnostic de type de porphyrie hépatique aiguë se fait en analysant les porphyrines dans les urines, les selles et le plasma au CFP (Cyan Fluorescent Proteine, une protéine fluorescente).

Le type de porphyrie peut être identifié en déterminant le déficit enzymatique spécifique. Cela ne peut s'effectuer que dans des laboratoires spécialisées et ne constitue qu'une approche probabiliste en vue d'un conseil génétique lors d'études familiales.

Lorsque la mutation génétique spécifique a été identifiée dans une famille de sujets porphyriques, le dépistage sans équivoque des porteurs pré-symptomatiques est alors possible.

Concernant le gène de la HMB Synthase on connaît plus de 350 mutations. La corrélation génotype phénotype montre qu'une activité HMB Synthase résiduelle plus faible à cause des mutations «allèle nul» pourrait contribuer à une expression clinique plus forte de la PAI.

Le diagnostic de porphyrie doit être évoqué dans le cadre des signes «neuro-viscéraux-psy» atypiques. Le dosage d'ALA et de PBG dans les urines doit être demandé en urgence et si leurs taux est 10 à 50 fois supérieur à la normale on peut poser le diagnostic de porphyrie en crise aiguë.

d) Traitement

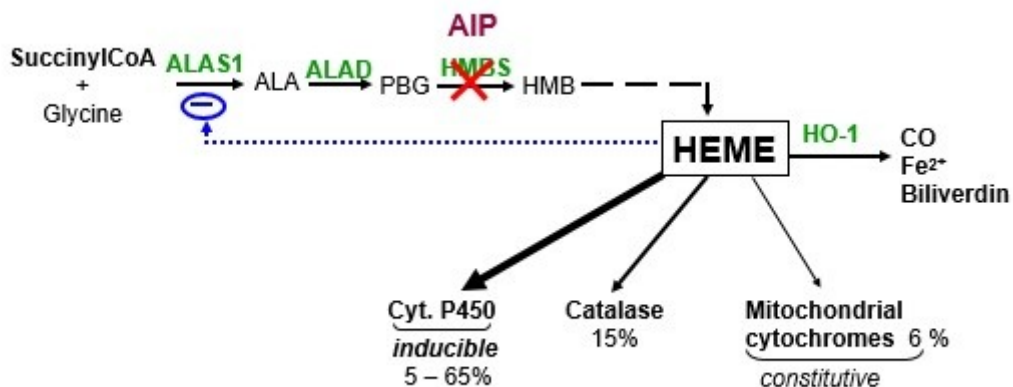
La crise porphyrique aiguë constitue une urgence médicale exigeant un traitement hospitalier. Il faut éliminer tous les facteurs déclenchants classiques tels que les médicaments, l'alcool, le jeûne etc et traiter les infections intercurrentes. Les opiacés et la chlorpromazine peuvent être utilisés pour prendre en charge la douleur et le stress du patient. On doit administrer des hydrates de carbone (glucose) au patient ainsi que de l'hémine humaine (Normosang). Cette dernière a comme rôle de normaliser l'activité de l'ALA-S et de réduire l'accumulation de précurseurs. Ce médicament doit être administré le plus rapidement possible, car le

traitement est d'autant plus efficace qu'il est instauré précocement. Dans 99% des cas on observe une amélioration clinique rapide. Une disparition des douleurs abdominales a été observé en parallèle avec un retour à la normale des résultats biologiques (càd une diminution du taux d'ALA et PBG dans les urines). Le traitement ne présente pas des complications neurologiques exceptionnelles, a peu d'effet indésirables et ne possède pas de contre-indication pendant la grossesse.

e) Physiopathologie

Les crises aiguës en porphyrie sont induites par un accroissement des besoins de l'organisme en hème. L'association d'une augmentation de l'activité de l'ALA S (abolition du rétrocontrôle négatif exercé par l'hème) et d'une inhibition enzymatique (porphyrie) entraîne une surproduction et une accumulation d'ALA, de PBG et de porphyrines spécifiques (variable selon le siège du déficit enzymatique) dans les liquides biologiques.

ei) Phase latente



On peut voir des mutations hétérozygotes du gène HMBS, dans ce cas on a un déficit de 50% de l'activité de l'enzyme HMBS. La pénétrance d'une atteinte bi-allélique du gène HMBS (transmission autosomique dominante) est très faible. Dans la phase latente il n'y a pas d'accumulation des précurseurs ALA et PBG et il n'y a pas de symptôme non plus.

eii) Phase active

Les facteurs précipitants augmentent les besoins en hème en induisant une augmentation de la synthèse du Cyp P450. La diminution du pool d'hème qui ne peut plus exercer son rétrocontrôle inhibiteur sur ALA-S1 induit une augmentation d'ALA et PBG. Or l'ALA est neurotoxique, ce qui explique la symptomatologie aiguë neuro-viscérale. On parle de neuropathieporphyrique.

eiii) Traitement

Il s'agit d'éliminer les facteurs précipitants. Restaurer un rétrocontrôle négatif en administrant du glucose et de l'hémine humaine.

f) Facteurs déclenchants

Ils ont en commun une activation de l'ALA S1. Les médicaments lipophiles et les hormones stéroïdiens diminuent le pool d'hème libre qui sera utilisé pour la synthèse des Cyp P450. (Nous avons vu l'année dernière en Medoc que les molécules lipophiles devraient subir des modifications afin qu'elles puissent être éliminées de l'organisme. Ces sont les Cytochromes P450 qui font les modifications nécessaires). Ils activent également de manière directe l'expression d'ALA S1 (via les facteurs de transcription CAR/PXR). Le jeûne active aussi de manière directe l'expression de la même enzyme via (PGC1-alpha). Les infections, le stress et l'inflammation induisent l'hypercatabolisme de l'hème par HO-1 et active également l'expression d'ALA S1 (via FOXO et HNF4)

Le prof a mentionné que le nom des facteurs de transcription n'est pas important.

g) Génétique des porphyries hépatiques aiguës

Les PAI sont des maladies autosomiques dominantes à pénétrance incomplète (31% pénétrance familiale et 1% pénétrance dans la population générale) avec une prévalence de gène muté de 1/1600 voire 1/1000. La prévalence de la maladie est inférieure à 1/100.000 (ce qui montre que la maladie n'apparaît pas systématiquement dès qu'un gène est muté mais cela montre bien l'importance des facteurs déclenchants). L'incidence est de 0.14 / an / 1.000.000. Il y a une grande hétérogénéité allélique des mutations (plus de 350 mutations connues pour le gène HMBS) et le taux de mutations de novo est faible (<3%). Cette grande hétérogénéité explique l'expression clinique variable de la maladie. Les corrélations intrafamiliales ont montré qu'il y a une absence de corrélation entre les parents et les enfants et entre les enfants et l'oncle/tante et grands-parents. Par contre il y a une corrélation entre les frères et les sœurs ce qui laisse penser que la différence de pénétrance entre la population générale et la famille peut s'expliquer par des facteurs génétiques ou épigénétiques.

h) Les nouvelles voies thérapeutiques

Les enzymes recombinants humains tels que la PBG Désaminase (Porphozyme) ont eu des essais cliniques négatifs en France et en Europe.

La transplantation hépatique est une solution extrême qui possède un intérêt parfois clinique et surtout physiopathologique. La crise aiguë de PAI est toujours associée à une hyperproduction d'ALA et PBG. La transplantation hépatique corrige le déficit enzymatique hépatique (HMBS) et normalise l'excrétion d'ALA et PBG. Ce traitement nous a montré que la PAI est une maladie strictement hépatique et que la production de neurotoxine (ALA) est également d'origine hépatique. Donc le ciblage hépatique est indispensable pour toute perspective thérapeutique nouvelle.

Les siRNA anti ALAS1 (Alynlam) ont comme but diminuer l'activité de cette enzyme en détruisant l'ARNm qui la code.

*Petite dédicace à mon petit Victor d'amour qui m'a sauvé en me prêtant sa clé USB pour récupérer le cours du prof: **