COLLOQUE NATIONAI

MALADIES RARES LIÉES AUX MÉTAUX ESSENTIELS

HÔPITAL SAINT-LOUIS

AMPHITHÉÂTRE MILIAN 1 AVENUE CLAUDE VELLEFAUX - 75010 PARIS

VENDREDI

23 01 15



COMITÉ D'ORGANISATION

F.Woimant & P.Brissot
Coordinateurs des Centres Maladies Rares Wilson et Surcharges en fer d'origine génétique
M.Bost • AS.Brunet • C.Collet • JC.Duclos-Vallée

E.Jacquemin • A.Lachaux • M.Misrahi-Abadou • A.Poujois • J.Poupon

RENSEIGNEMENTS ET INSCRIPTIONS EMELINE RUANO 01 49 95 66 11 EMELINE.RUANO@LRB.APHP.FR









Les centres de référence sur les maladies rares liées au cuivre (maladie de Wilson et autres) et au fer (hémochromatoses et autres) s'unissent pour organiser ce colloque sur les maladies rares liées aux métaux essentiels.

Certains se demanderont pourquoi ce colloque ? Tout simplement, parce que de nombreuses interactions existent entre les métabolismes des différents métaux et que les affections liées aux métaux essentiels ont de nombreux points communs.

Le plus souvent, les maladies rapportées à un métal modifient le métabolisme d'autres métaux. Ainsi, dans la maladie de Wilson, une surcharge en fer ou en manganèse peut être associée à la surcharge en cuivre. Quant aux intoxications au zinc, elles entraînent une carence en cuivre.

Les surcharges en fer peuvent être essentiellement hépatiques (les hémochromatoses), cérébrales (la neuroferritinopathie), hépatique et cérébrale dans le cas de l'acéruloplasminémie (affection génétique entraînant un déficit dans la principale protéine porteuse de cuivre).

Ces maladies chroniques se manifestent à tous les âges de la vie, de l'enfance à l'âge adulte (jusqu'à un âge avancé), leurs parcours de santé sont souvent proches.

Le diagnostic repose sur le dosage des métaux essentiels (sang, urines, tissus) et, en cas de maladies génétiques, sur la biologie moléculaire. Le travail collaboratif avec les biologistes est donc essentiel.

Enfin les traitements des maladies de surcharge sont essentiellement les chélateurs des métaux et ceux des carences la supplémentation en métal. Mais d'autres approches pourraient voir le jour prochainement.

Cette journée s'annonce donc riche en échanges entre les différents experts de ces PATHOLOGIES RARES LIÉES À DES MÉTAUX COURANTS.



Dr France Woimant Coordinatrice CNR Wilson



Pr Pierre Brissot Coordinateur CR Fer



Colloque National Maladies Rares liées aux Métaux Essentiels

Vendredi 23 janvier 2015 - Hôpital St-Louis — Amphithéâtre Milian

9h30-9h45

OUVERTURE DU COLLOQUE par Mme E Parier (Directrice du Groupe Hospitalier Saint-Louis/Lariboisière/F. Widal) et par le Pr P Brissot & le Dr F Woimant (Coordinateurs des Centres Maladies Rares Fer et Wilson)

SESSION DU MATIN

(Modérateurs: Pr E Broussolle, Lyon — Pr E Jacquemin, Paris — Pr A Lachaux, Lyon)

	9h45-10h	Métabolisme des métaux: les interconnexions (Dr O Loreal, Rennes)
	10h10-10h25	Actualités dans la Maladie de Wilson (Dr F Woimant, Paris)
	10h35-10h50	Actualités dans l'Hémochromatose (Pr P Brissot, Rennes)
11h-11h15 PAUSE		
	11h15-11h30	Pathologies neurologiques et surcharge en fer (Dr C Moreau , Lille)
	11h40-11h55	Le manganèse: du foie au cerveau (Dr AS Brunet – Dr L Lion-François, Lyon)
	12h05-12h20	Acrodermatite Entéropathique: Quoi de neuf? (Dr A Brocard, Nantes)

SESSION DE L'APRES-MIDI

(Modérateurs: Pr M Abadou-Misrahi, Paris — Dr O Loreal, Rennes — Dr JM Trocello, Paris)

13h30-14h	Comment interpréter une hypocéruloplasminémie, une hyperferritinémie ? (Dr A Poujois, Paris — Dr E Bardou-Jacquet, Rennes)
14h10-14h20	Le réseau des laboratoires de génétique moléculaire de la filière maladies rares — maladies des métaux (Pr J Rochette, Amiens)
14h25-14h40	Efficacité de l'analyse moléculaire du gène ATP7B dans le diagnostic de la Maladie de Wilson (Dr M Bost, Lyon)
14h50-15h05	Les nouvelles recommandations de l'EMQN sur le diagnostic de l'hémochromatose héréditaire (Dr M Morris, Lausanne)
15h15-15h25	Comment visualiser les métaux en imagerie? (Pr Y Gandon, Rennes)
15h35-15h45	Comment visualiser les métaux en histologie? (Dr S Kascakova, Villejuif)
15h55-16h10	Intoxication fatale chez une duchesse de 66 ans ou les dangers de certains métaux « revitalisants » (Dr J Poupon, Paris)
16H30	CLOTURE DU COLLOQUE



9:45 > 10:00

Dr Olivier Loréal / CHU de Rennes

Directeur de recherches INSERM (UMR 991) et responsable de l'équipe Fer et Foie au CHU de Pontchaillou à Rennes.

Métabolisme des métaux : les interconnexions

Olivier Loréal, Thibault Cavey, Edouard Bardou-Jacquet, Marie-Laure Island, Lénaick Detivaud, Martine Ropert, Pierre Brissot. INSERM UMR 991 et Centre de référence des surcharges en fer rares d'origine génétique.

L'identification de nouveaux acteurs du métabolisme du fer, comme l'hepcidine, qui contrôle l'expression de la ferroportine -l'exportateur du fer-, et module celle de DMT1 (Divalent Metal Transporter 1) a amélioré notre connaissance du métabolisme du fer et des maladies liées au fer. Les données expérimentales et cliniques, suggèrent :

- 1) que ces protéines pourraient intervenir dans le métabolisme d'autres cations divalents et/ou être régulés par eux,
- 2) qu'une pathologie affectant le métabolisme d'un métal pourrait moduler le métabolisme d'un autre métal. Une meilleure connaissance des liens entre le fer et les autres métaux pourrait améliorer notre compréhension des maladies liées au fer, notamment la variabilité de leurs expressions phénotypiques, ainsi que celle des maladies au cours desquelles le métabolisme du fer est secondairement affecté.



10:10 > 10:25

Dr France Woimant / Hôpital Lariboisière, Paris

France Woimant, neurologue, s'intéresse tout particulièrement à la pathologie neuro-vasculaire et à la Maladie de Wilson. Elle partage son temps entre l'ARS-IF en tant que référente pour les pathologies neurologiques et l'Hôpital Lariboisière où elle coordonne le Centre National de Référence pour la Maladie de Wilson.

Actualités dans la maladie de Wilson

Sur le plan épidémiologique, la prévalence de la maladie de Wilson (MW) pourrait être sous estimée. D'après une étude anglaise récente, la fréquence de portage de deux mutations pathologiques sur les allèles ATP7B est de 1/7026, donc bien supérieure à la prévalence rapportée classiquement : 1/30 000.

Sur le plan clinique, le diagnostic de MW au delà de 50 ans est de plus en plus fréquent.

Le diagnostic biologique est largement facilité par le dosage du REC (rapport cuivre échangeable / cuivre total). Ce dosage a montré son efficacité dans les formes symptomatiques et dans les formes diagnostiquées lors d'un screening familial. Le nombre de mutations et de délétions à l'origine de la MW ne cesse d'augmenter.

La principale difficulté de la prise en charge des formes neuropsychiatriques est le risque d'aggravation initiale sous traitement ce, d'autant plus que cette aggravation n'est pas toujours réversible. Les facteurs prédisposants à cette aggravation restent discutés: mauvaise observance, taux de cuivre échangeable très élevé au diagnostic, lésions cérébrales corticales... Sur le plan génétique, il n'a pas été décrit de génotype associé à une résistance aux traitements médicamenteux.

Quelles sont les pistes thérapeutiques pour ces patients?

Le risque d'aggravation neurologique initiale pourrait être moindre avec le tétrathiomolybdate. Des études internationales sont en cours.

Les résultats de la transplantation hépatique dans les formes neurologiques sont très variables. Le moment de la transplantation est certainement fondamental. Ceci montre toute l'importance de disposer de facteurs pronostiques.

Sur le plan symptomatique, dans les formes sévères avec des dystonies invalidantes entrainant une perte d'autonomie, l'efficacité de la stimulation cérébrale profonde est à l'étude.

Quant aux patients traités depuis plusieurs années, ils peuvent développer des carences en cuivre qu'il est important de diagnostiquer précocement.



10:35 > 10:50

Pr Pierre Brissot / CHU de Rennes

Professeur d'hépatologie, Pierre Brissot a été Président de l'Association Française pour l'Etude du Foie (AFEF) et Président de l'International Biolron Society (IBIS). Il est coordonnateur du Centre National de Référence des surcharges en fer rares d'origine génétique, basé au CHU de Rennes.

Les hémochromatoses en 2015

Au nom des équipes constituant le centre de référence et les centres de compétence des surcharges en fer rares d'origine génétique ainsi que de celles impliquées dans les actions associatives de malades.

L'hémochromatose liée au gène HFE est la forme de loin la plus fréquente. La cascade: mutation C282Y homozygote-hepcidinodéficience-hypersidérémie-production de fer non lié à la transferrine, explique la surcharge en fer. Le diagnostic est devenu non invasif, basé sur la clinique, la biologie et parfois l'imagerie (IRM), L'anomalie biologique première est l'élévation du coefficient de saturation de la transferrine plasmatique. Les saignées demeurent la base du traitement. La supplémentation en hepcidine est l'approche thérapeutique du futur. Les hémochromatoses non liées à HFE sont rares. Trois d'entre elles sont en rapport avec des mutations responsables, comme l'homozygotie C282Y, d'un défaut de production en hepcidine. Il s'agit des mutations HJV (hémojuvéline), HAMP (hepcidine) et TFR2 (récepteur de la transferrine de type 2). L'expression clinique est celle d'une hémochromatose juvénile pour HJV et HAMP, et d'une hémochromatose adulte ou juvénile pour TFR2. Une quatrième forme d'hémochromatose est la maladie de la ferroportine qui correspond, dans sa forme habituelle, à une surcharge en fer par rétention intracellulaire de fer. Ainsi, la saturation de la transferrine v est basse. Le traitement par saignées peut être mal toléré. De transmission dominante, elle est cliniquement peu sévère. On peut rapprocher des hémochromatoses l'acéruloplasminémie héréditaire, particulière par son expression neurologique du fait d'une surcharge en fer cérébrale. Les saignées sont contre-indiquées et la chélation est la seule approche possible.



11:15 > 11:30

Dr Caroline Moreau / CHRU de Lille

Caroline Moreau occupe le poste de MCU-PH dans le service de Pathologies du Mouvement de Neurologie au CHRU de Lille.

Elle fait également parti de l'équipe INSERM UMR-1171 Pathologies Cognitives Neuro-Dégénératives et Vasculaires.

Pathologies neurologiques et surcharge en fer

Nouveau concept thérapeutique dans la maladie de Parkinson : La chélation conservatrice du fer

Une surcharge en fer a été décrite depuis très longtemps dans la substance noire et le striatum des patients parkinsoniens. Le challenge pharmacologique est de chélater modérément le fer uniquement dans une région du cerveau sans altérer le métabolisme du fer au niveau cérébral et systémique. La défériprone (1,2-dimethyl-3-hydroxypyridin-4-one, Ferriprox®) est une molécule qui remplit l'ensemble de ces critères.

Nous avons réalisé une étude pilote, en « double aveugle » chez 40 patients parkinsoniens débutant la maladie. Soit les patients étaient de novo, soit ils avaient moins de 3 ans d'évolution.

Le critère principal de l'étude était la mesure de la surcharge en fer au niveau des noyaux gris centraux à l'aide d'une séquence d'imagerie par résonance magnétique (IRM 3 T) spéciale : le R2* dans la substance noire chez chaque patient. Les IRMs étaient répétées à 0, 6, 12 et 18 mois.

Le second critère était l'évolution du handicap moteur mesuré par l'échelle UPDRS (Unified Parkinson Disease Rating Scale) à 0, 6, 12 et 18 mois.

L'analyse des données a montré que dans la première phase de l'étude 19 patients ont été mis sous défériprone et 18 sous placebo. Les résultats à 6 mois ont démontré une réduction significative de la surcharge en fer dans les noyaux gris centraux chez les patients parkinsoniens traités ; il existait une amélioration en moyenne de 2 points sur le score moteur UPDRS chez les patients traités les 6 premiers mois, par rapport aux patients sous placebo, qui avaient tendance à s'aggraver (+1 point en moyenne).

A 12 mois, l'ensemble des patients ayant été mis sous traitement (N= 34) ont présenté une amélioration mais ceux qui avaient débuté de traitement plus tardivement n'ont pas rattrapé le bénéfice observé chez les patients ayant reçu le traitement plus tôt. La défériprone présente donc

- (1) un effet symptomatique sur les signes moteurs grâce à une action bloquante sur une des enzymes de dégradation de la dopamine la catéchol-Omethyl-transferase (COMT)
- (2) un possible effet neuroprotecteur car le bénéfice observé chez les patients traités précocement n'est pas retrouvé chez les patients traités plus tardivement, à la fois cliniquement et sur l'IRM.

11:40 > 11:55



Dr Anne-Sophie Brunet / HFME de Lyon

Anne-Sophie Brunet est hépatologue pédiatre au Centre National de Référence pour la Maladie de Wilson à Lyon. Elle consulte au sein du service Hépatogastro-Entérologie Pédiatrique de L'Hôpital Femme-Mère-Enfant de Bron.

Le Manganèse : du foie au cerveau

AS Brunet, L Lion-François

Le manganèse (CAS 7439-96-5) est un métal qui se retrouve naturellement dans l'air, l'eau, le sol et dans les systèmes vivants. Au plan biologique, le manganèse (Mn) est un minéral essentiel qui est indispensable au fonctionnement d'un bon nombre de familles enzymatiques. En plus de son rôle essentiel dans le corps, de nombreuses études publiées indiquent qu'à des doses d'exposition suffisamment élevées, le manganèse est une substance toxique chez l'être humain. Alors que le manganèse peut s'avérer toxique pour un certain nombre de systèmes de l'organisme, l'organe cible critique est le système nerveux central (SNC), où le manganèse s'accumule dans les ganglions de la base du cerveau. Des niveaux d'exposition très élevés peuvent entraîner une maladie neurologique clinique grave appelée manganisme : encéphalopathie au manganèse ou démence au manganèse qui se caractérise par des troubles neuropsychologiques et un syndrome parkinsonien. Des niveaux d'exposition modérés peuvent entraîner une détérioration subclinique de la fonction neurologique, notamment des tremblements, une réduction du contrôle de la motricité fine, de la mémoire et des habiletés cognitives, compatibles avec des lésions des ganglions de la base.

L'accumulation peut être endogène dans le cas de SLC19 ou le plus souvent exogène : mineurs, cocainomanes, hépathopathies chroniques.

La présence de dépôts intracérébraux de manganèse (hyper-intensité du pallidum) a été mise en évidence en cas d'encéphalopathie hépatique, associée à des concentrations sériques élevées de manganèse chez ces malades. L'aspect en imagerie par résonance magnétique identique à celui observé lors d'intoxication par le manganèse.

Sur le plan thérapeutique, l'efficacité des traitements chélateurs comme l'EDTA ou du régime pauvre en manganèse ont été rapportés.



12:05 > 12:20

Dr Brocard / CHU de Nantes

Anabelle Brocard est Praticien Hospitalier en dermatologie au CHU de Nantes. Son activité est centrée sur la prise en charge de l'oncologie cutanée : mélanome, lymphome, carcinome, le suivi des patients transplantés d'organe, la photothérapie dynamique..

Acrodermatite entéropathique : Quoi de neuf ?

L'acrodermatite entéropathique est un syndrome héréditaire rare de déficience en zinc transmis selon un mode autosomique récessif. Cette pathologie est liée à un déficit de l'absorption intestinale du zinc, secondaire à une anomalie de la molécule transporteuse du zinc par mutation du gène SCL39A4 sur le chromosome 8g24.3.

La pathologie se révèle habituellement dans les premiers mois de la vie, lors du sevrage de l'allaitement maternel. Le tableau clinique évocateur devant la triade suivante : atteinte acrale et périorificielle, diarrhée, et alopécie. L'atteinte cutanée est très caractéristique dans sa distribution symétrique, périorificielle, rétroauriculaire, atteignant les extrémités. Les lésions cutanées sont assez polymorphes et peuvent être érythémateuses au début, puis vésiculo-bulleuses, pustuleuses, ou érythématosquameuses ; elles sont souvent associées à une diarrhée aqueuse, une anorexie, une cassure de la courbe staturo-pondérale qui peuvent précéder l'apparition des lésions cutanées caractéristiques. Les lésions muqueuses comportent une gingivite, une stomatite et une glossite. Une alopécie se développe fréquemment de même que des déformations des ongles et des atteintes ophtalmologiques. Les enfants sont souvent irritables, léthargiques ou dépressifs et avec susceptibilité aux infections accrues, pouvant conduire à des diagnostics erronés. Le tableau complet est observé dans 20% des cas.

Le diagnostic repose sur la clinique, associé à un taux plasmatique en zinc effondré.

L'identification de l'anomalie moléculaire apporte la preuve définitive d'acrodermatite entéropathique et permet la distinction avec les formes acquises de déficit en zinc.

Le traitement consiste en une simple supplémentation orale quotidienne en zinc, permettant de faire disparaître tous les symptômes en quelques jours ou quelques semaines. Ce traitement substitutif doit être maintenu à vie, le pronostic à long terme de l'acrodermatite entéropathique étant alors excellent.

13:30 > 14:00

Dr Poujois / Hôpital Lariboisière, Paris

Aurélia Poujois, Neurologue MD, PhD est Praticien Hospitalier au sein du Centre National de Référence pour la maladie de Wilson et du Service de Neurologie de l'hôpital Lariboisière.

Elle s'intéresse tout particulièrement aux pathologies du mouvement.

Comment interpréter une hypocéruloplasminémie ?

La céruloplasmine (Cp) est une alpha-glycoprotéine de l'organisme qui contient plus de 95% du cuivre plasmatique. Durant sa synthèse, six atomes de cuivre sont incorporés pour former une holocéruloplasmine qui a la particularité d'avoir une activité ferroxydasique permettant la mobilisation et l'oxydation du fer des tissus vers la transferrine. Si le cuivre n'est pas fixé sur la Cp, il y a formation d'une apocéruloplasmine, sans activité ferroxydasique, qui est rapidement dégradée. Cp, cuivre et fer sont donc intimement liés.

Face à une hypocéruloplasminémie (hypoCp), des causes génétiques et acquises sont à rechercher.

La maladie de Wilson (MW) et l'Acéruloplasminémie (ACp) sont deux maladies génétiques autosomiques récessives associées à une hypoCp et à des manifestations neurologiques. La cuprurie des 24h et la ferritinémie sont des examens clés pour les départager.

La MW est due à un défaut du transporteur du cuivre ATP7B qui entraine une accumulation de cuivre dans le foie puis dans le SNC et l'oeil. Les manifestations neurologiques sont marquées par une atteinte des ganglions de la base (GB) et du cervelet (hypersignaux Flair en IRM) et par la présence d'un anneau de Kaiser-Flescher bilatéral. La cuprémie est basse et la cuprurie ainsi que le REC sont élevés.

L'ACp est à l'origine d'une accumulation de fer dans l'organisme (SNC, pancréas, œil, foie ...) du fait de l'absence d'activité ferroxydasique. L'atteinte survient à l'âge adulte avec un diabète, une rétinite pigmentaire et une atteinte progressive du SNC (syndrome parkinsonien, ataxie, démence). L'IRM montre des hyposignaux T2 des GB et du cervelet. La ferritine est très élevée avec taux de saturation normale ou bas, la cuprémie basse mais la cuprurie normale.

Les autres causes d'hypoCp sont les carences en cuivre acquises (malaborption, alimentation entérale, entéropathies, traitement par zinc) ou génétiques (maladie de Menkès), le syndrome néphrotique, la malnutrition ou l'insuffisance hépatique sévère.



13:30 > 14:00

Dr Edouard Bardou-Jacquet / CHU de Rennes

MCU-PH dans le service des maladies du foie de CHU de Rennes, Edouard Bardou-Jacquet est impliqué dans l'activité du Centre de Référence des surcharges en Fer Rares d'Origine Génétique depuis son arrivée à Rennes en 2006. C'est aussi sa thématique de recherche clinique.

Comment interpréter une hyperferritinémie ?

FACTEURS CONFONDANTS

Premièrement : évaluer les causes sans lien avec le fer

Alcool : Directement ou non, l'alcool peut induire une franche majoration de ferritine. Un contrôle après arrêt de la consommation est souvent très informatif

Syndrome inflammatoire : La ferritine est un marqueur de l'inflammation aigues ou chroniques (infection, maladies inflammatoires, néoplasie), typiquement associée à une saturation basse

Lyse cellulaire : La ferritine étant principalement intracellulaire, la lyse cellulaire provoque sa libération dans le plasma et donc une hyperferritinémie

OBJECTIVER UNE SURCHARGE EN FER

Deuxièmement : objectiver et quantifier la surcharge en fer

Saturation de la transferrine : sa très forte variabilité, impose un contrôle sur un 2éme examen Concentration hépatique en fer : la mesure de la concentration hépatique en fer par IRM est simple et reflète le stock en fer de l'organisme

ACQUISE

Situations les plus fréquentes en pratique

Syndrome métabolique : Sans (hyperferritinémie métabolique) ou avec surcharge en fer (hépatosidérose métabolique)

Hémopathie: la surcharge due aux transfusions peut persister, de plus en raison de liens direct entre érythropoïèse et fer, une dysérythropoïèse peut induire une surcharge en fer sans transfusion **Hépatopathie**: toutes les atteintes hépatiques peuvent entrainer une surcharge en fer

GÉNETIQUE

Hémochromatose HFE: fréquente, associe une saturation élevée et des atteintes de sévérité variables **Hémochromatose Juvénile** (Hémojuvéline et Hepcidine) : très rare, atteinte clinique sévère chez des patients jeunes

Hémochromatose lié à TFR2 : très rare, intermédiaire entre HFE et les formes juvéniles

Maladie de la ferroportine : rare, caractérisée par une saturation en général normale

HYPERFERRITINEMIE GENETIQUE SANS SURCHARGE

Syndrome hyperferritinémie-cataracte : associée à une cataracte précoce, l'hyperferritinémie peut être majeure

L-ferritine : mutation du gène en lui-même, la présentation biologique similaire mais sans cataracte

14:10 > 14:20



Pr Jacques Rochette / CHU d'Amiens

Jacques Rochette est généticien au CHU d'Amiens. Il est responsable du département de Génétique Médicale et de la Biologie de la Reproduction. Il est également chef de service du Laboratoire de Génétique Moléculaire et coordonnateur du réseau des laboratoires de diagnostic moléculaire des pathologies héréditaires du Métabolisme du fer. Il a pour thèmes de recherche l'épidémiogénétique des formes rares d'hémochromatose, la dynamique moléculaire et fonctionnelle des mutants d'HFE, le syndrome ICCA.

Le réseau des laboratoires de génétique moléculaire de la filière maladies rares - maladies des métaux

Les laboratoires qui réalisent le diagnostic moléculaire des maladies héréditaires du métabolisme du fer sont organisés en réseaux comme ceux qui sont impliqué dans le métabolisme du cuivre, du manganèse et du zinc. Pour ce qui concerne les surcharges en fer, le territoire national est assez bien maillé de telle sorte qu'en faisant appel à l'un ou à l'autre de ces laboratoires les gènes de différentes formes d'Hémochromatose peuvent être séquencés : HFE, Tfr2, HJV, Hamp et SLC40A1. D'autres gènes font également partie de la panoplie analytique de ces laboratoires. Au total ils sont une quinzaine et ce chiffre évolue continuellement. La pratique des nouvelles méthodes de séquençage (NGS) fait partie de l'arsenal diagnostic de certains laboratoires dans le but d'identifier de nouveaux gènes responsables des surcharges en fer non expliquées. Compte tenu du nombre de séquences réalisées, il n'est pas exceptionnel d'identifier de **nouvelles mutations** dont il faut prouver ou non la pathogénicité. La stratégie de choix est alors celle de *l'étude familiale* si elle est possible. Lorsque la nouvelle mutation siège dans la *partie codante* des gènes, il existe plusieurs stratégies d'investigation:

- 1) les études structurales par dynamique moléculaire
- 2) par homologie dont les limites sont liées au choix de l'homologue. **Des études fonctionnelles** sont parfois nécessaires soit pour compléter les données structurales, soit par ce que les études *in silico* sont défaillantes. Une séquence d'étude peut-être la suivante : mutagénèse dirigée et transfection, étude de l'expression du mutant par cytométrie de flux, étude d'interaction avec les ligands par immunochimie. Lorsqu'une mutation siège dans une partie *non codante*, une analyse de transcrits, de l'épissage ou de l'efficacité de la transcription peut être réalisée.



14:25 > 14:40

Dr Muriel Bost / Lyon

Muriel Bost est Pharmacien PhD, HDR, responsable du diagnostic biochimique et par génétique moléculaire de la maladie de Wilson et de l'hémochromatose.

Elle exerce dans le service des Maladies Héréditaires du Métabolisme et Dépistage Néonatal (génétique moléculaire de la maladie de Wilson et de l'hé-

mochromatose) ainsi que dans le laboratoire de Neurogénétique Moléculaire du Centre de Biologie et Pathologie Est de Bron. Elle partage également son temps avec le laboratoire d'Analyse de Trace et Métaux Toxiques (réalisation, en particulier, des bilans cupriques), UF de Pharmaco Toxicologie du Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire de l'hôpital Edouard Herriot de Lyon.

Efficacité de l'analyse moléculaire du gène ATP7B dans le diagnostic de la Maladie de Wilson

1. Laboratoire des Maladies Héréditaires du Métabolisme, CBPE, Bron / 2. Laboratoire d'Analyse de Trace et Métaux Toxiques, Biochimie et Biologie Moléculaire, Lyon / 3. Centre de Référence pour la Maladie de Wilson

Introduction: La maladie de Wilson (OMIM#277900) est due à des mutations dans le gène ATP7B (MIM#606882; NG_008806.1; NM_000053.3). C'est pourquoi l'analyse moléculaire de ce gène est l'une des démarches de la stratégie diagnostique de la maladie.

Objectif : Evaluer l'efficacité de l'analyse moléculaire du gène ATP7B dans le diagnostic de patients atteints de la maladie de Wilson.

Méthodologie : Nous avons étudié 276 patients wilsoniens sans liens familiaux dont le diagnostic était basé sur différents critères comme la présence de signes hépatiques et/ou neurologiques, d'un anneau de Kayser-Fleisher, d'une augmentation du cuivre (Cu) urinaire, d'une diminution de la céruloplasmine et du Cu total dans le sérum, d'une augmentation du REC (rapport Cu échangeable/Cu sérique total) et, parfois, d'une augmentation de la teneur en Cu hépatique. Les patients avaient donné leur consentement pour l'étude génétique. Après une extraction saline des ADN génomiques, un séquençage direct des 21 exons du gène ATP7B a été réalisé ainsi qu'une analyse MLPA (étude des grands rearrangements du gène) chez les patients qui ne présentaient qu'une seule mutation, voire aucune.

Résultats: Parmi la cohorte de 276 patients, deux mutations ont été identifiés dans le gène ATP7B chez 243 sujets Wilsoniens (88%), seulement une mutation dans 20 cas (7,2%) et aucune mutation dans 11 cas (4%). 31 patients ont été analysés par la technique MLPA; chez 5 d'entre eux, nous avons identifié la délétion d'un exon.

Conclusions : L'analyse moléculaire du gène ATP7B par séquençage direct et technique MLPA permet la detection d'environ 92% des chromosomes mutés. Il est possible que d'autres spots de mutation soient localisés dans les introns, plus éloignés des jonctions intron-exon ou situés dans la région 3'UTR et puissent posséder 5 à 10% des mutations non encore identifiées.

Cette étude moléculaire a également permis d'identifier le spectre des variants responsables de la maladie de Wilson dans notre cohorte de patients wilsoniens recrutés en France.



14:50 > 15:05

Dr Michael Morris / Synlab Suisse, Lausanne

Après 25 ans au Laboratoire de Diagnostic moléculaire aux Hôpitaux universitaires de Genève, Michael Morris est directeur du Département de Diagnostic moléculaire à Synlab Suisse (depuis 2013) et mène l'International Genetics Advisory Board de synlab. Il était un des membres fondateurs d'Eurogentest et siège au Groupe de direction de l'EMQN depuis 2009.

Les nouvelles recommandations de l'EMQN sur le diagnostic de l'hémochromatose par génétique moléculaire

Pour le groupe expert EMQN : Graça Porto, Pierre Brissot, Dorine W. Swinkels, Heinz Zoller, Isabel Alonso et Steve Keeney.

L'hémochromatose héréditaire (HH) est caractérisée par un déficit d'hepcidine, une Ts augmentée et une accumulation de fer. La grande majorité de patients ont la forme associée au HFE (HFE-HH) et sont homozygotes pour C282Y. L'homozygotie C282Y n'est ni suffisante pour développer la maladie (pénétrance <25%) ni nécessaire (de rares formes associées à d'autres gènes). Un groupe expert sous l'égide de l'EMQN a développé des recommandations actualisées pour le diagnostic génétique de la HH. Un questionnaire a permis d'étudier les pratiques diagnostiques en 2012. 113 réponses validées de 26 pays ont été reçues (principalement de participants EMQN). 25% de laboratoires effectuaient >500 analyses HFE/an, 25% de 200-500. 25 labos offraient le séquençage de HFE et d'autres gènes HH. Le taux de détection d'homozygotes C282Y étaient de 5-20% pour la maiorité des labos, sans différence significative entre labos avec ou sans des critères d'acceptation. Tous testaient pour C282Y et H63D; 12% recherchaient H63D seulement en deuxième intention, 64% cherchaient S65C, en première intention ou sur demande. 6% testaient pour d'autres variantes en fonction des kits commerciaux employés.

Après une étude de la littérature et la rédaction d'une première version du guide des meilleures pratiques, un atelier expert a eu lieu (EMQN, Porto, mai 2014). Deux documents en résultaient : un document qui définit le contexte et les résultats de l'étude préparatrice et le Guide des Meilleures Pratiques. Le Guide se concentre sur le HH-HFE et fournit des recommandations sur des indications pour tester, les stratégies techniques, et le contenu des comptes-rendus. En particulier les experts insistent sur le risque de surdiagnostic. Le Guide recommande de ne chercher que C282Y et H63D et fournit des recommandations détaillées d'interprétation et de suivi (individuel et familial) en fonction du contexte (analyse diagnostique ou prédictive) et du résultat de génotypage.

Pr Yv

15:15 > 15:25

Pr Yves Gandon / CHU de Rennes

Yves Gandon est Professeur en radiologie et imagerie médicale à l'hôpital Pontchaillou de Rennes.

Comment visualiser les métaux en imagerie?

Le terme imagerie regroupe plusieurs techniques d'exploration. Le scanner mesure l'atténuation des photons X qui dépend du poids atomique moyen d'un voxel d'1mm³. La détermination de la concentration spécifique d'un élément biochimique est donc limitée. La densité augmente avec une concentration importante de fer mais ce n'est pas spécifique et potentiellement masqué par une stéatose. Le scanner double énergie ne semble pas apporter d'amélioration.

En fait c'est l'IRM qui est la méthode la plus performante pour quantifier le fer car, sous forme d'amas, il a une action superparamagnétique et réduit considérablement le signal, en T1 et en T2. Cette baisse de signal est spécifique si l'on fait attention aux paramètres d'acquisition afin d'éviter l'influence de la graisse sur le signal. On a ainsi pu développer des méthodes de quantification surtout performantes pour le foie et le cœur mais moins facilement applicables pour d'autres tissus. En effet, il faut un environnement favorable pour apprécier une baisse de signal et aussi que le fer soit sous une forme superparamagnétique : l'influence sur le signal dépend également de l'architecture moléculaire du stockage du fer. Le cuivre et le manganèse n'atteignent pas le même niveau de concentration et de plus ils ont un simple effet paramagnétique. Ils sont responsables d'un hypersignal en T1 et d'un hyposignal en T2. L'effet peut être sensibilisé par des séquences spécifiques (SWI) qui intègrent une certaine proportion d'imagerie de phase. Il peut y avoir aussi des surcharges combinées en cuivre et en fer dans les noyaux gris. A partir de ces caractéristiques on comprend mieux les aspects observés en IRM.

15:35 > 15:45



Dr Saskia Kascakova / Hôpital Paul brousse, Villejuif

Saskia Kascakova est biophysicienne et occupe un poste de MCU rattaché à l'Université Paris-Sud XI dans l'équipe du Dr François Le Naour, de l'unité INSERM 1193 au Centre Hépatobiliaire de l'hôpital Paul Brousse.

Comment visualiser les métaux en histologie?

Contexte & Objectifs: La maladie de Wilson (WD) est une maladie génétique rare due à des mutations du gène ATP7B. Ce gène code pour la protéine ATP7B qui est impliquée dans le transport du cuivre (Cu). Les mutations du gène induisent une accumulation du Cu dans le foie. Son diagnostic est difficile du fait du nombre important des mutations répertoriées (>500) et de la variabilité des symptômes cliniques. Nous avons exploité le potentiel de la fluorescence aux rayons X (XRF) pour étudier la composition élémentaire du tissus hépatique.

Méthodes: Les études ont été effectuées sur des modèles animaux (Long Evans Cinnamon rat et rat Wistar) ainsi que sur des échantillons cliniques issus de foies normaux (n=10), de cirrhose alcoolique (n=8), d'hémochromatose (n=10), de cholestase (n=6) et de WD (n=21). Nous avons utilisé le rayonnement X du synchrotron (SR-XRF) sur des coupes de tissus congelés pour déterminer la composition élémentaire au niveau cellulaire. D'autres expériences ont été effectuées en utilisant une source de rayons X au laboratoire sur des tissus fixés ou non-fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). Enfin, des biopsies à l'aiguille incluse en paraffine (FFPE) ont été analysées.

Résultats: Nous démontrons que la XRF permet de réaliser des mesures quantitatives du cuivre (Cu), du zinc (Zn) et du fer (Fe) avec une haute sensibilité quelque soit l'échantillon et la préparation. Les spectres observés sur les tissus non fixés ou FFPE étaient strictement identiques. L'intensité du cuivre normalisée par rapport au fer et au zinc permet un diagnostic spécifique de la WD.



15:55 > 16:10

Dr Joël Poupon / Hôpital Lariboisière, Paris

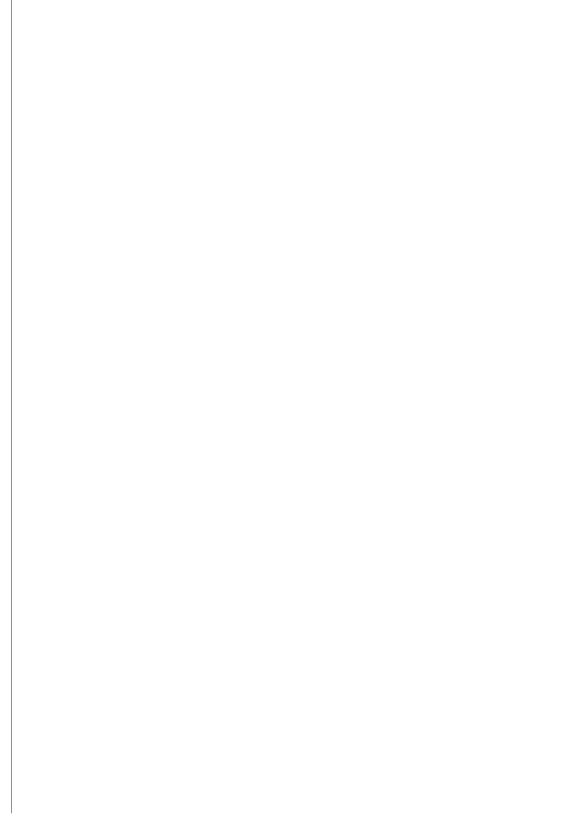
Joël Poupon est pharmacien biologiste, praticien hospitalier au Laboratoire de Toxicologie de l'hôpital Lariboisière (Paris 10°) et responsable de la toxicologie inorganique.

Intoxication fatale chez une duchesse de 66 ans ou les dangers de certains métaux « revitalisants »

Mme la Duchesse de V., 66 ans, décède à son domicile au printemps après un hiver particulièrement rigoureux, apparemment de mort naturelle. Quelques temps après, une exhumation du corps est ordonnée. Une suspicion d'intoxication étant évoquée, le médecin légiste qui coordonne l'exhumation et les analyses fait appel à un toxicologue.

L'étude du corps, réduit à l'état de squelette confirme les données suivantes : adulte mature, de taille d'environ 1,57 m. Une fracture du tibia droit bien consolidée expliquée par une chute de cheval récente. Les os présentent des signes d'arthrose et l'état dentaire est très médiocre. Des résidus corporels sont encore présents à la surface de certains os et un screening élémentaire révèle la présence de plusieurs métaux dont certains très inhabituels, ce qui sera confirmé par une analyse d'un cheveu issu d'une mèche conservée par la famille.

Nous examinerons les différentes hypothèses (traitement médicamenteux, homéopathie, médecines alternatives de type Ayurveda...) sur l'origine de ces métaux. Nous envisagerons leur toxicité et les conséquences possibles sur la santé de Mme de V. en relation avec les témoignages recueillis auprès de son entourage et les éventuels signes cliniques qu'on peut en tirer.





MALADIES RARES LIÉES AUX MÉTAUX ESSENTIELS 23 janvier 2015 - Paris







Remerciements







