

UE8 Nutrition
Pr Laurent Gouya
Le 6/10/2017 de 13h30 à 15h30
Ronéotypeur: Giulia Stefan
Ronéolecteur: Albane Badet

Cours n°4: Métabolisme de l'hème et porphyries héréditaires

Le prof a précisé qu'il demanderait à l'examen « obligatoirement » la définition des porphyries ainsi que les différents rôles de l'hème. Par ailleurs, il ne veut pas qu'on apprenne tous les noms des enzymes et gènes et plutôt les principes généraux.

Le prof a changé par rapport à l'année d'avant, il dit avoir voulu simplifier le cours, et veut qu'on retienne vraiment l'essentiel sans se perdre dans des noms de protéines que on apprendrait que pour l'examen. Les seuls noms vraiment à apprendre sont dans la fiche.

Sommaire

I. L'hème

1. Rôles biologiques
2. Biosynthèse
3. Régulation de la biosynthèse
 - a. Dans le tissu érythroïde
 - b. Dans le foie

II. Les porphyries

1. Caractéristiques générales
2. Classification
3. Signes cliniques
4. Porphyries à manifestation cutanées

III. Les porphyries hépatiques aiguës

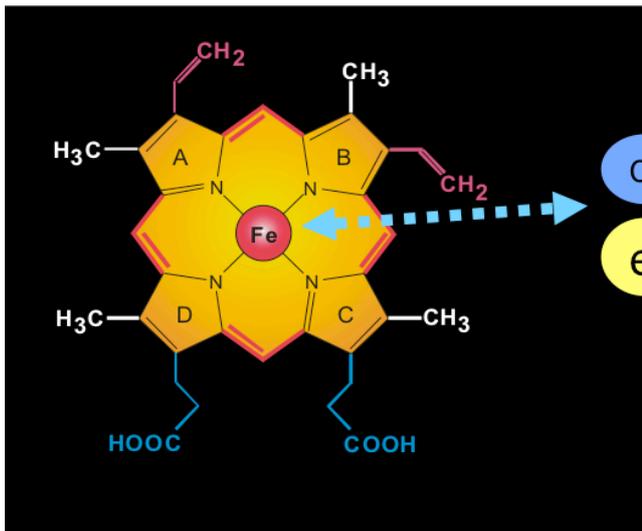
1. Symptômes neurologiques
2. Porphyrie Aiguë Intermittente (PAI)
 - a. Phases latente et active
 - b. PAI et génétique
3. Facteurs déclenchants
4. Diagnostic biologique
5. Nouvelles voies thérapeutiques

Les porphyries sont les anomalies liées à la biosynthèse de l'hème. La biosynthèse de l'hème c'est l'entreprise qui vise à produire de l'hème et qui comporte 8 étapes avec des « ouvriers ». Les porphyries sont des maladies par accumulation d'un produit qui devrait normalement être transformé par une enzyme qui est déficiente. Ce sont des maladies de barrage lié à un déficit d'une enzyme et ce déficit est responsable en amont de l'accumulation des précurseurs. Le plus souvent, elles n'ont pas de conséquences en terme de diminution de la production d'hème. En effet si ces maladies entraînaient une diminution de la production d'hème, elles auraient un impact trop important pour être tolérées car le métabolisme de l'hème est essentiel à la vie.

Ces maladies restent assez mal connues et la plupart du temps, on pense à une porphyrie en désespoir de cause.

Apprendre obligatoirement la définition des porphyries la question sera à l'examen

I. L'hème



La molécule d'hème est composée d'un atome de fer au sein d'une molécule cyclique. L'atome de fer est présent car il a des propriétés électroniques très intéressantes avec 2 états compatibles avec la vie humaine: oxydé et réduit. Il va permettre le transport de l'oxygène et des électrons. L'hème va servir comme groupement prosthétique et va venir se coller aux protéines pour leur donner des fonctions particulières. La plus commune des hémoprotéines est quantitativement l'hémoglobine. L'hémoglobine participe au transport de l'oxygène et la myoglobine le stocke. L'hème sert également dans d'autres protéines au transport d'électrons: Cytochromes de la chaîne respiratoire cellulaire, Catalase et peroxydase du métabolisme de H₂O₂, Dcytb (duodénal cytochrome b) pour la réduction du fer en Fe²⁺, Tryptophan 2,3 dioxygénase dans le catabolisme des tryptophanes, Cyclooxygénase dans la synthèse

des prostaglandines et NO synthèses dans la synthèse du NO (*pas demander des noms d'enzymes*)

Apprendre obligatoirement, la question « A quoi sert l'hème? » sera à l'examen

1. Rôle biologique

L'hème a également plein d'autres rôles et en particulier des rôles liés à des phénomènes régulateurs:

- elle va être son propre répresseur au niveau du foie
- elle est aussi inductrice de son catabolisme par une enzyme: l'Hème Oxygénase
- elle est une molécule régulatrice qui intervient dans la maturation des miRNA, dans l'inhibition des canaux Ca-dépendent.

Nombre de ses réactions vont passer par la fixation d'une molécule d'hème sur des motifs HRM (Heme Regulatory Motif) qui sont des motifs souvent Cys-Pro. L'hème se fixe sur une protéine et va entraîner un mécanisme régulateur. Par exemple, quand la molécule d'hème vient se fixer sur l'HRE-BP, la nouvelle conformation spatiale de l'HRE-BP lui permet de venir se fixer au niveau du promoteur du gène sur une séquence HRE (Heme Regulatory Element) qui va réprimer la transcription d'un gène comme le gène ALAS1, CYC1, CYC2 ou encore CTT1.

Autre exemple, la protéine HRI (Heme Regulated Inhibitor) possède un élément HRM sur lequel l'hème vient se fixer et régule la traduction des chaînes de globine. S'il n'y a pas d'hème, il n'y a pas de production de chaînes de globine car l'hème seule est toxique et les chaînes de globine seules sont toxiques. Donc il faut une coordination dans leur synthèse.

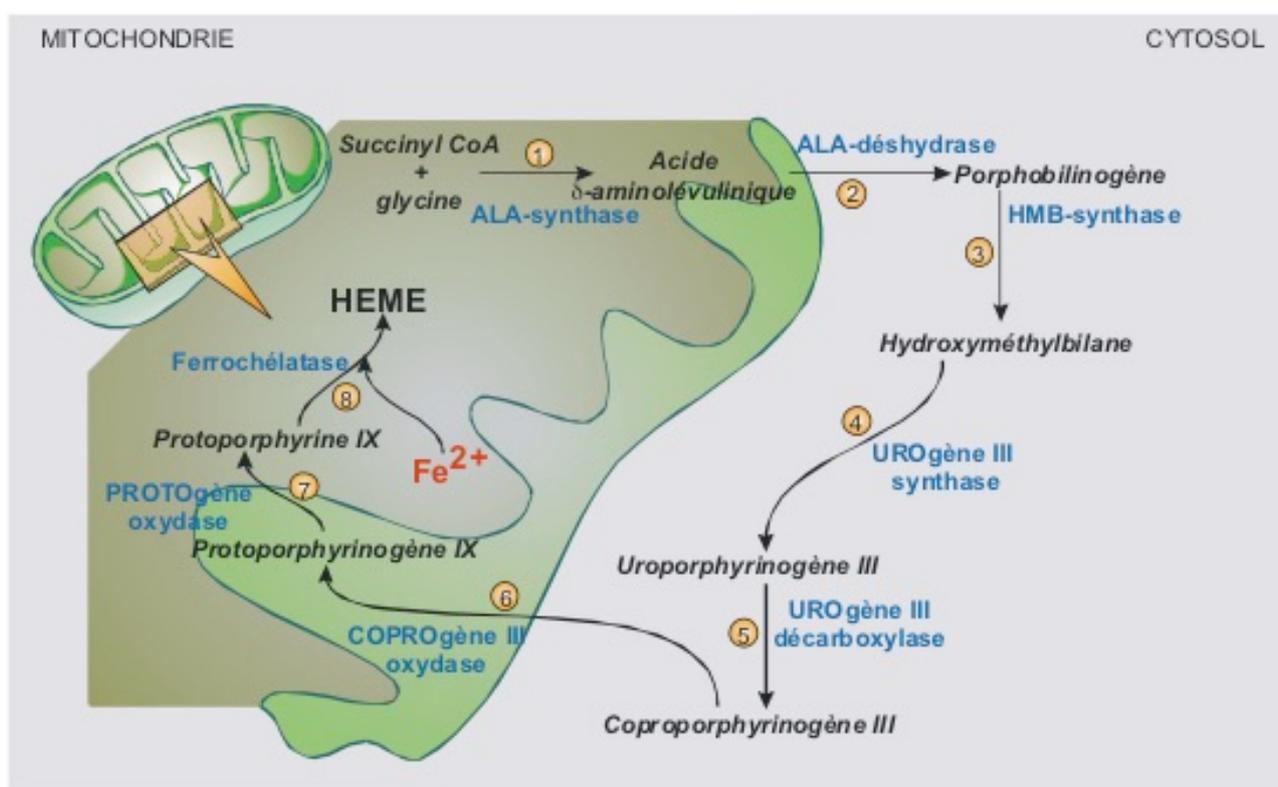
2. Biosynthèse

Quand on fabrique une molécule d'hème, il y a 8 étapes partiellement mitochondriales et partiellement cytosoliques. Les molécules initiales ou précurseurs vont être assemblées entre elles et vont permettre la fabrication des porphyrines. Les 3 premières étapes permettent de synthétiser des précurseurs et les autres étapes synthétisent des porphyrinogènes. L'hème est composé d'une molécule de protoporphyrine IX et d'un atome de fer.

La molécule de porphyrine, si on retire le fer est « pratiquement » la molécule d'uroporphyrinogène III qui est la molécule mère de plein de porphyrinogène et qui compose la Chlorophylle, la vitamine B12, le coenzyme Q F430 et l'hème. L'atome de coordination, cation divalent de chaque molécule va donner sa couleur (Magnésium, Cobalt, Nickel, Fer). (*ca s'est pour votre culture G, vous embêtez pas forcément avec*)

Le prof dit qu'il faut connaître les principales enzymes mais pas connaître le schéma de la diapo 8 par coeur.

La première étape est l'utilisation de molécules qui proviennent du cycle de Krebs (Succinyl-CoA et glycine)



qui se condensent pour former l'acide δ-aminolévulinique (ALA) grâce à l'enzyme ALA-synthase. Il existe une ALA-synthase 2 érythroïde, limitée aux tissus érythroïdes et une enzyme ubiquitaire ALAS1 pour tout le reste de l'organisme. Elle va réguler très majoritairement la voie de biosynthèse de l'hème. A l'étape 4, on passe de l'état de précurseur à celui de porphyrinogène. L'hydroxyméthylbilane est un composé cyclisé linéaire alors que l'Uroporphyrinogène III est un composé complètement cyclique.

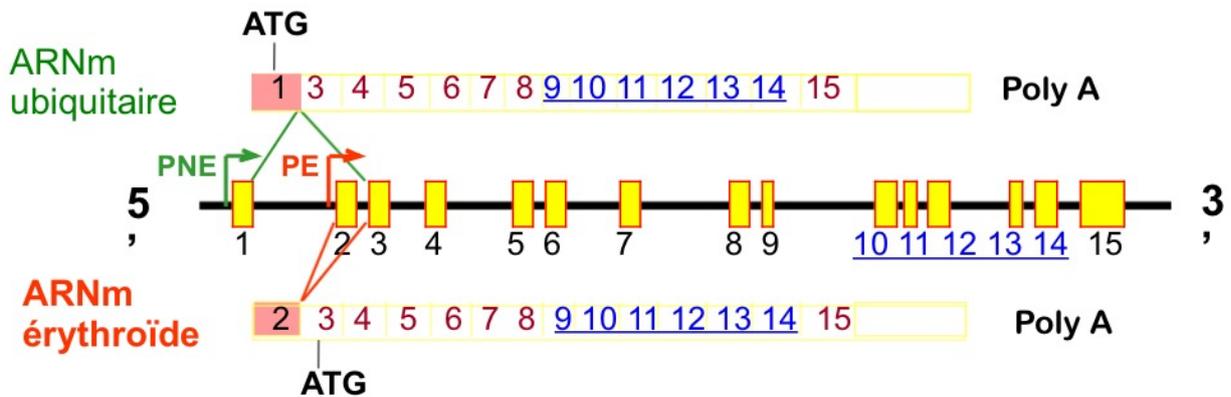
Il y a deux sites de biosynthèse de l'hème. 80% de l'hème est produit par la moelle osseuse pour l'érythropoïèse et 15% par le foie en fonction des besoins et le reste par le rein (*négligeable*).

La différence de métabolisme de l'hème en fonction du tissu est majeure. Les enzymes sont les mêmes sauf la première enzyme régulatrice, ALAS qui a deux isoformes. Elle est codée par des gènes différents: ALAS1 pour le foie et autres tissus situé sur un autosome et ALAS2 pour la moelle érythroïde qui est sur un chromosome X.

Pour un humain standard, la production de globules rouges est de 200 milliards par jour. Donc la production d'hème se fera globalement en continu, il y a toujours un besoin en hème pour produire des chaînes de globine. Le foie produit de l'hème en fonction des besoins. Si on consomme des médicaments ou de l'alcool par exemple, le foie aura besoin d'hème pour les cytochromes P450 qui vont détoxifier tous ces éléments.

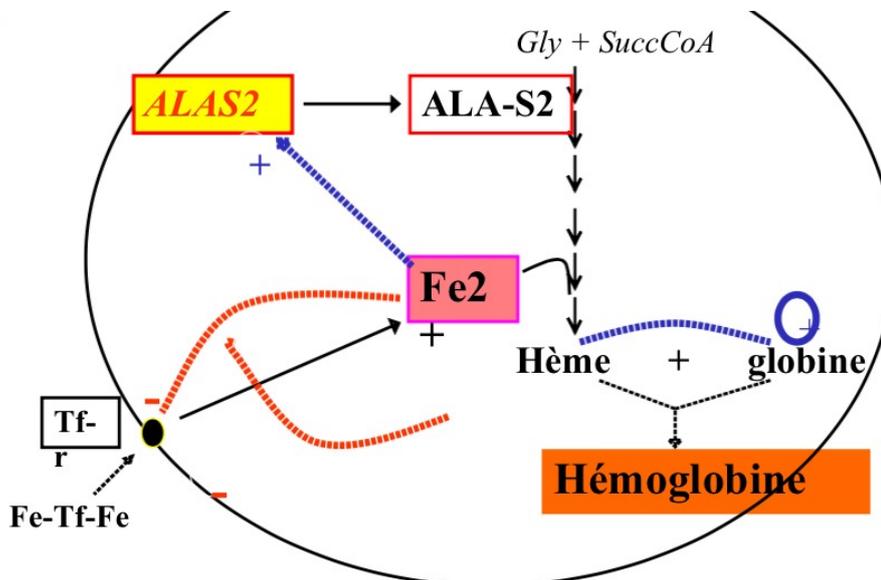
3. Régulation de la biosynthèse

La régulation se fait essentiellement au niveau de la première étape: ALAS1 pour le foie et autres tissus et ALAS2 uniquement tissus érythropoïétiques. Ensuite on a des régulations transcriptionnelles par la présence des promoteurs alternatifs qui peuvent être exprimés soit en rapport avec une expression érythroïde spécifique ou non érythroïde.



Lors de l'épissage du gène de la PBGD, le promoteur érythroïde se situe en amont de l'exon 2 et le promoteur non érythroïde en amont de l'exon 1. On obtiendra un ARNm 1-3 quand on utilise le promoteur non érythroïde et un ARNm 2-3 avec le promoteur érythroïde.

a. Dans le tissu érythroïde



La régulation de la synthèse érythroïde n'est pas très fine et va être régulé par les facteurs limitants. L'élément déterminant est la biodisponibilité du fer. La régulation se fait par le fer, à deux endroits essentiellement: au niveau de la transferrine qui transporte le fer et au niveau des récepteurs à la transferrine (TF-r1) qui vont permettre l'endocytose du fer dans la cellule. Le fer va ensuite être libéré et passer dans la mitochondrie pour être utilisé par la Ferrochelatase, la dernière enzyme du cycle de l'hème.

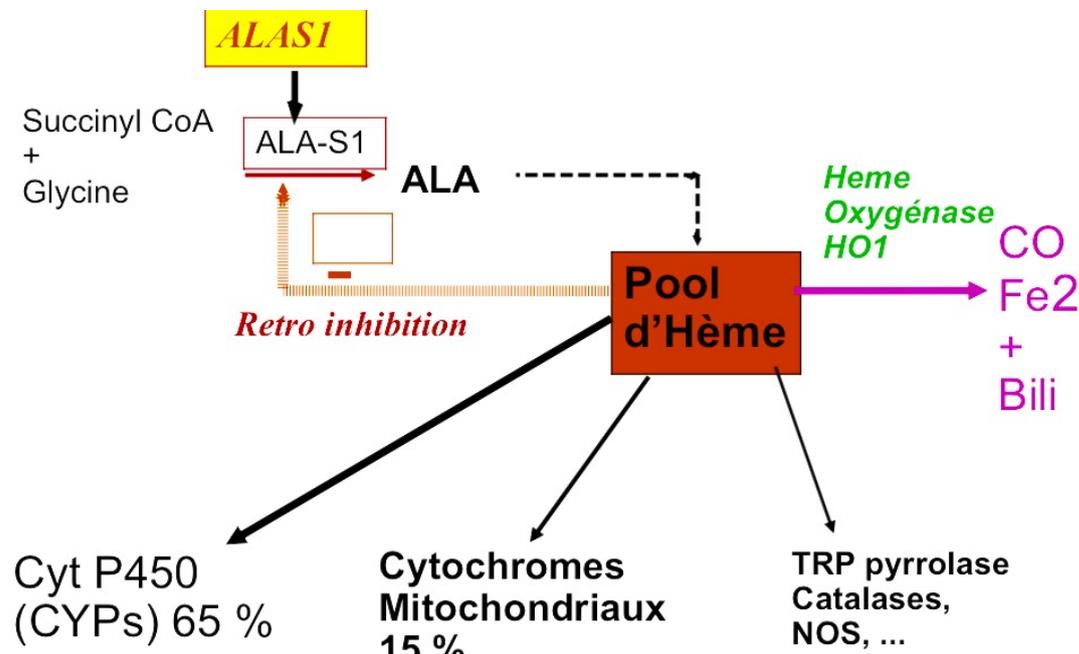
Elle se fait par un élément régulateur, IRE (Iron Regulatory Element) qui est présent soit dans la partie 3' soit dans la partie 5' des gènes. Cet élément est une structure tige-boucle sur laquelle une protéine IRP (Iron Responsive Protein) va venir se fixer. Quand IRP est fixée en 5' de l'ARNm, en amont du gène, il y a inhibition de la traduction du gène qui entraîne une diminution de la transcription du gène ALAS2 car il devient inutile de produire de l'ARN qui ne sera pas utilisé. Pour TFR1, c'est l'inverse, on veut beaucoup d'ARN TFR1 quand on manque de fer dans la cellule. Ainsi, la IRP va venir se fixer en 3' et va stabiliser l'ARN qui ne va pas se dégrader.

Si on a une quantité de fer normale, le fer va se fixer sur les IRP. L'IRP ne pourra alors pas se fixer sur les IRE et ainsi ALAS2 sera traduit normalement et TFR1 ne sera pas traduit et l'ARN sera dégradé.

Quand on a une carence martiale, pour ne pas synthétiser les chaînes de globine, la synthèse de l'hème sera inhibée, ALA-synthase va être régulé à la baisse.

b. Dans le foie

Le pool d'hème libre va exercer un rétro-contrôle négatif sur l'enzyme ALAS1. Si on consomme de l'hème libre, par exemple dans les Cytocromes P450 pour fabriquer des hémoprotéines détoxifiantes, on va lever le rétrocontrôle négatif pour reconstituer le pool d'hème libre.



L'hème oxygénase va cataboliser l'hème en CO, Fe²⁺ et bilirubine. La seule circonstance physiologique classique de l'induction de HO est le recyclage des globules rouges sénescents dans les macrophages.

Le rétrocontrôle négatif de l'hème libre sur ALAS1 se fait à 5 niveaux de contrôle:

- une régulation de la transcription par l'intermédiaire des facteurs de transcription
- une régulation de la stabilité de l'ARNm (on ne connaît pas vraiment le mécanisme)
- la plus importante : une régulation par le transfert de l'ALAS1 du cytosol vers la mitochondrie, quand l'hème vient se fixer sur le motif HRM de l'enzyme ALAS1, il y aura un blocage du passage dans la mitochondrie de ALAS1. (*ALAS 1 doit aller dans la mitochondrie car c'est le lieu du début de la synthèse*)
- l'hème en se fixant sur l'enzyme ALAS1 a aussi une action inhibitrice de l'activité enzymatique de ALAS1
- ALAS1 peut être dégradée par une protéine, la lone peptidase, qui est sensible à la quantité d'hème dans la cellule.

II. Les Porphyrines

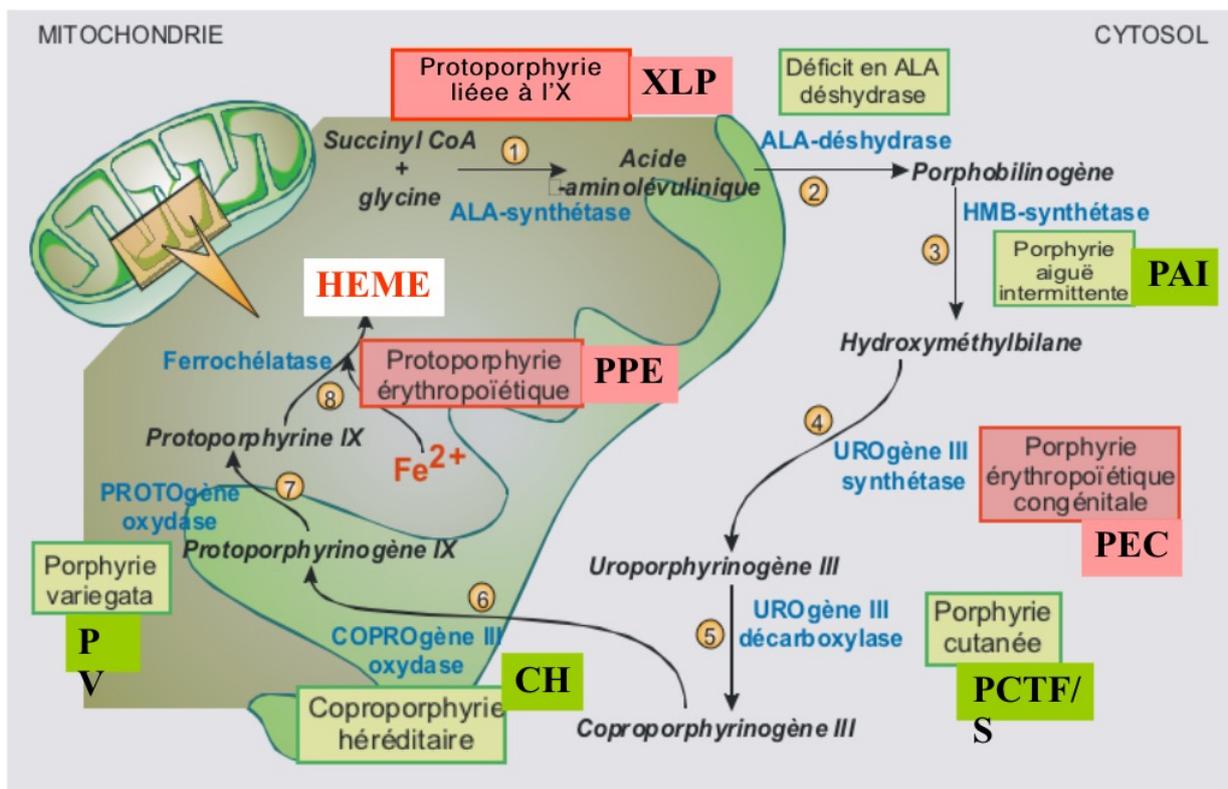
1. Caractéristiques générales

Il y a 8 maladies génétiques due à des déficits et pour l'une d'entre elles à un gain de fonction des activités des enzymes de la chaîne de biosynthèse de l'hème résultant de mutations des gènes correspondants. Les porphyries entraînent des accumulations anormales de porphyrines et/ou de leurs précurseurs: ALA et PBG dans le foie (porphyrie hépatique) ou la moelle (porphyrie érythropoïétique) qu'on retrouve dans le sang, les urines ou les selles.

Seul le gène ALAS2 peut entraîner des mutations perte de fonction ou gain de fonction. Quand il y a une mutation perte de fonction, on va avoir une anémie sidéroblastique. La quantité d'hème fabriquée est insuffisante. C'est le seul cas qui existe dans lequel une mutation d'un de ces gènes donne une carence en hème. Quand on a un gain de fonction sur ALAS2, il n'y a aucun problème toutes les autres enzymes sont suffisantes puissantes pour métaboliser les quantités accrues de porphyrines sauf la ferrochelatase. Il y aura une accumulation de protoporphyrines.

Remarque: La mutation perte de fonction de ALAS2 ne provoque pas de porphyrie car il n'y a pas de production d'aucun précurseurs donc pas de production de porphyrines non plus. En revanche la mutation gain de fonction de ALAS2 engendre la Protoporphyrine liée à l'X.

2. Classification



La classification des porphyries se fait selon le tissu « producteur » (le nombre de patients est donné pour la France et à titre purement indicatif) :

Les porphyries hépatiques Aiguës :

- Porphyrie par déficit en ALAD
- Porphyrie aiguë intermittente (PAI) (environ 600 patients)
- Coproporphyrine héréditaire (CH) (70 patients)
- Porphyrie variegata (PV) (300 patients)

Porphyries hépatique chroniques: cutanées, bulleuses/ érosives:

- Porphyrie cutanée tardive familiale ou spontanée (PCT f/s) (20000 patients) , la plus fréquente et la moins sévère

Les porphyries érythropoïétiques: cutanées, photo-algiques

- Porphyrie érythropoïétique congénitale (PEC) ou maladie de Gunter (5 patients)
- Protoporphyrine érythropoïétique (PPE) (320 patients)
- Protoporphyrine liée à l'X (XLP) (10 patients)

Les porphyries hépatiques sont autosomiques dominantes et débutent à l'âge adulte. Alors que les porphyries érythropoïétiques sont récessives et à début précoce.

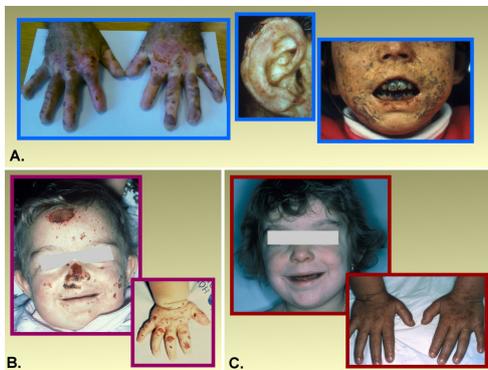
3. Signes cliniques

Les porphyries induisent des symptômes neurologiques comme les crises aiguës neuroviscérales liées à l'accumulation des précurseurs (ALA, PBG) et/ou au manque d'hème. Ils n'apparaissent que dans les porphyries hépatiques aiguës: PAI, CH, PV.

Il y a aussi des lésions cutanées, bulleuses ou algiques induites par le rayonnement solaire (photosensibilité), dues à l'accumulation de porphyrines dans la peau. Ils apparaissent dans toutes les porphyries, sauf la PAI.

Finalement on retrouve des signes hématologiques comme les anémies hémolytiques ou une anomalie de la biosynthèse des globules rouges dans les porphyries érythropoïétiques.

4. Porphyries à manifestations cutanées



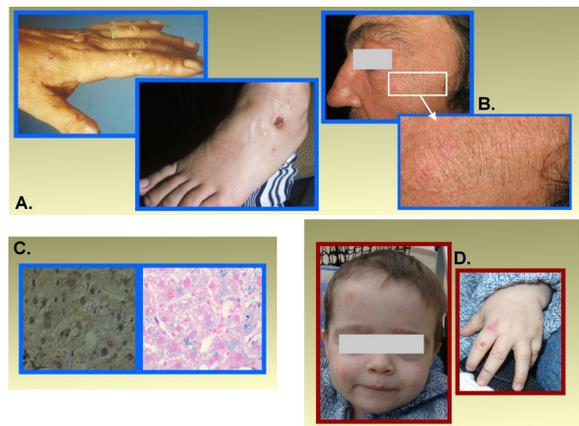
La **Porphyrie Erythropoïétique Congénitale** se manifeste par une perte des doigts, des mains, des oreilles. Il y a une possibilité de traitement par greffe de moelle dans les premières années de vie. Cette greffe est très efficace, la maladie est guérie, les symptômes cutanés disparaissent sauf l'érythrodontie, l'accumulation des pigments dans les dents.

La **Porphyrie Cutanée Tardive (f/s)** est due à un déficit d'Uroporphyrinogène III décarboxylase qui a 2 formes : soit purement acquis, l'enzyme est normale à la base, mais des facteurs exogènes vont provoquer le déficit, c'est la PCT sporadique. Elle peut aussi être partiellement acquise partiellement environnementale; c'est la PCT familiale.

Elle n'a que des signes cutanés. On va voir des bulles de 2-3mm à un centimètre sur les régions photo-exposées. Elles vont se rompre et vont donner une lésion ulcérée longue à cicatriser. On garde des cicatrices chromique ou hypochromique. Ces lésions sont dues à l'accumulation du fer dans le foie et apparaissent surtout chez les personnes qui consomment de l'alcool, qui ont l'hépatite virale B ou C, le syndrome métabolique ou l'hémochromatose génétique (les causes sont classées dans un ordre qui n'est

vrai que à l'échelle de la France, au Japon par exemple, la première cause de PCT, c'est l'hépatite). Il y a d'autres symptômes cutanés comme la fragilité dermique et l'hypertrichose malaire.

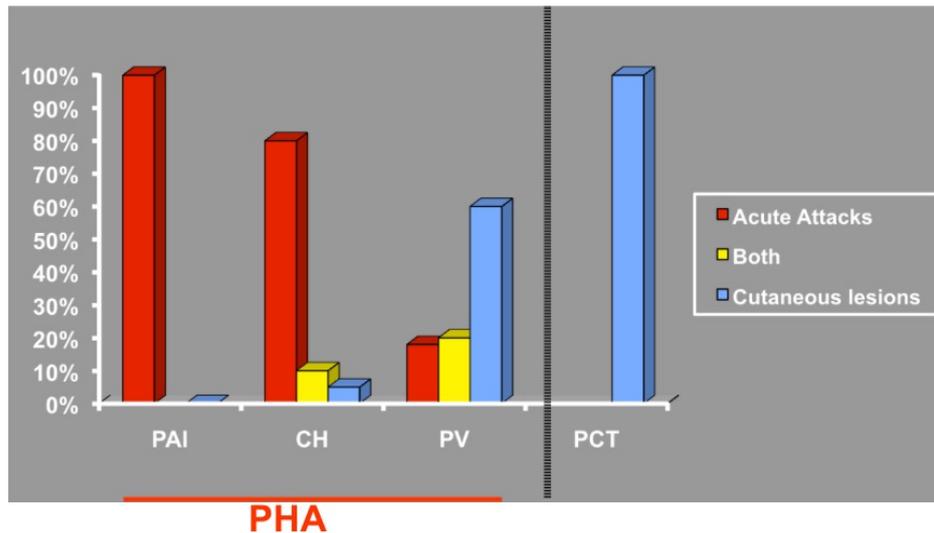
Le traitement de base est double: celui du symptôme se fait par la saignée et il faut également faire le traitement de la cause (alcool, hépatite..).



III. Les porphyries hépatiques aiguës

Les crises de porphyries aiguës surviennent à 80% chez la femme entre 20 et 45 ans majoritairement. Les symptômes majeurs sont les douleurs abdominales très fortes. On a un risque de neuropathie (paralysie) non négligeable. Les facteurs déclenchants sont le jeûne, les infections, le cycle hormonal, les médicaments, l'alcool, le choc affectif, le stress.

Le prof n'a pas vraiment détaillé la diapo 30, il dit juste qu'à l'état basal, l'activité d'ALAS est faible mais quand on a besoin d'hème elle est amplifiée.



Tout est dans le graphique (rappel: CH= coproporphyrine héréditaire, PV=porphyrie variegata)

1. Symptômes neurologiques

- **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 symptômes neurologiques des porphyries hépatiques aiguës sont:

- Neuro-végétative: douleur abdominale+++ , constipation + , vomissement++ , hypertension et tachycardie
- Périphérique: neuropathie motrice axonale et douleur des extrémités avec une diminution de la force motrice
- SNC: anxiété, hallucinations, agitation, épilepsies

Concernant la PAI, elle entraîne parfois des axonopathies métaboliques porphyriques qui atteignent les nerfs périphériques. Pour un nerf donné l'atteinte est proximale et peu distale. On aura une dégénérescence axonale primitive, une démyélinisation secondaire et des nodules de régénération et l'apparition du symptôme dit « des mains d'accoucheur ».

2. Porphyrie Aiguë Intermittente

La PAI est due à un déficit en Hydroxyméthylbilane-Synthase (HMBS). ALA et PBG vont s'accumuler, on aura que des signes neurologiques. Il y a une mutation hétérozygotes du gène HMBS avec 50% de déficit en activité HMBS. Il y a 2 phases dans la PAI: une phase latente pendant laquelle il n'y a rien à signaler et une phase active.

a. Phases latente et active

Il n'y a pas d'accumulation de précurseurs ALA/PBG et pas de symptômes: « porteur présymptomatique » pendant la phase latente. L'hème exerce son rétrocontrôle négatif sur ALAS1.

Mais quand il y a des facteurs précipitants, l'hème sera utilisée au niveau des Cyt P450, de la catalase et des Cyt mitochondrial. La quantité d'hème diminue et donc le rétrocontrôle également, déclenchant ainsi la phase active. L'activité de l'enzyme PBGD diminue en dessous de 50% et entraîne une accumulation d'ALA/ PBG qui sont neurotoxiques. La symptomatologie aiguë neuro viscérale sera la neuropathie porphyrique.

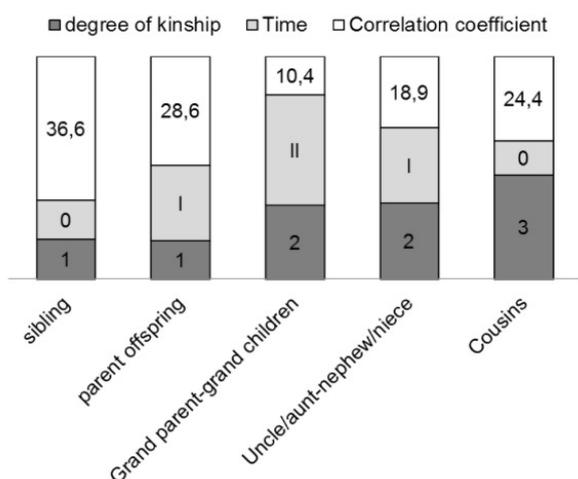
Le traitement se fait par l'hémine humaine qui va abaisser la surproduction d'ALA-PBG, par rétablissement du pool d'hème libre et donc de son 'feed back' négatif sur ALAS1. Les douleurs du patient disparaissent en quelques jours si c'est le début de la crise. Mais l'hème est un médicament inducteur de récurrence de crise de porphyrines. Il y a un risque non négligeable pour qu'il redéclenche une crise de porphyrines quelques jours ou quelques semaines plus tard. On va redonner de l'hème et les crises se rapprochent. Certains patients font des crises toutes les semaines.

De plus il y a un risque de développer une hémochromatose par accumulation de fer dans le foie qui est pro-oxydant et pro-inflammatoire. Si la crise n'est pas très sévère on peut également donner du glucose en traitement. (*c'est pas à apprendre mais en fait, on va pouvoir donner du glucose parce que ce dernier est un inhibiteur de PGC1 α , qui est lui même un activateur de ALAS1. Pour les partiels, retenez juste le traitement à l'hémine humaine*)

N'a pas abordé les cas cliniques

b. PAI et génétique

Les porphyrines sont des maladies autosomiques dominantes à faible pénétrance. La pénétrance familiale moyenne est de 23% et en population générale elle est de 1%. En France, de 1974 à 2016, environ 50 000 personnes sont estimées porteuses des mutations génétiques de la PAI. 600 personnes ont développé la maladie et on a dépisté à travers les enquêtes familiales 2000 mutations. Sur ces 600 personnes, 88% d'entre eux font une crise et ne referont jamais de crises. 5% vont faire quelques crises (1 à 4 par an), c'est la forme intermittente de la maladie. 5 à 10% des cas sont des patients qui vont faire plus de 4 crises par an, qui est lié à la dépendance à l'hémine humaine. Certains peuvent faire quasiment une crise par semaine.



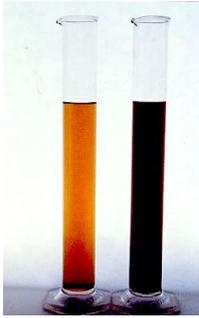
On a 14% fois plus de risque de déclencher la PAI quand la mutation a été découverte dans une famille. Le graphique montre que le déclenchement de la maladie dans les familles est corrélé au degré de parenté mais aussi aux facteurs environnementaux partagés (époque etc..).

3. Les facteurs déclenchants

Les facteurs déclenchants de la PAI induisent l'emballement hépatique d'ALAS1:

- les médicaments lipophiles, hormones stéroïdes diminuent le pool d'hème libre par induction des Cyt P450 et active directement l'expression d'ALAS1 (CAR/PXR)
- le jeûne active directement l'expression d'ALAS1 (PGC1- α)
- les infections, stress, inflammation activent directement l'expression d'ALAS1 (FOXO-1 et HNF4) et entraînent l'hypercatabolisme de l'hème par HO-1.

4. Diagnostic biologique



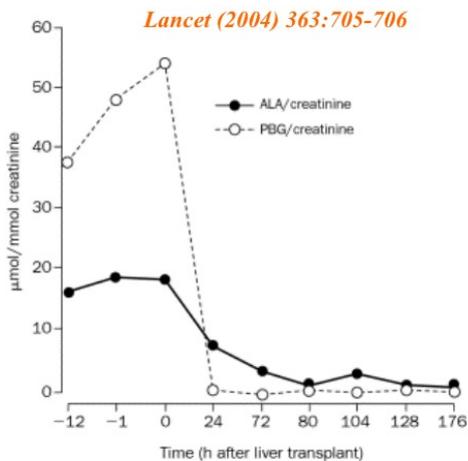
Dans 80% des cas, les urines vont être colorées en brun-rouge après exposition des urines à la lumière moins 30 à 45min. Le diagnostic biologique se fait par le dosage de ALA et PBG dans les urines qui doit être fait à peu près au moment de la crise et non après. La sensibilité et la spécificité sont très élevées. Si on est 10 à 50 fois supérieur à la normale, on a le diagnostic de crise aiguë porphyrique et il faudra contacter le CRM Porhyries. Il va falloir alors faire une analyse des porphyrines dans les urines, les selles et le plasma pour déterminer alors le type de porphyrie hépatique aiguë. On mesure ensuite le niveau d'activité enzymatique et on fait un prélèvement sanguin pour rechercher la mutation, pouvoir faire l'enquête familiale et identifier les porteurs présymptomatiques.

Le prof n'a rien dit sur la diapo 48

Pour la pratique, on retiendra qu'en cas de crise aiguë de porphyrie: il faut hospitaliser le patient, retirer les facteurs déclenchants. La prise en charge de la douleur se fait avec des opiacés. Les hydrates de carbone (sucres) aident à réprimer ALAS1 et en cas de crise grave, on donne du Normosang® (hémine humaine).

5. Nouvelles voies thérapeutiques

Il a eu un essai clinique négatif en France et en Europe des enzymes recombinantes humaines: Porphozyme® (PBG Désaminase) L'échec de cette thérapeutique est du au fait qu'elle est injectée dans la circulation, l'enzyme ne va pas aller dans le foie.



La transplantation hépatique est une solution pour les patients extrêmement sévères qui sont parfois toutes les semaines dans les cliniques pour recevoir du Normosang®. La transplantation corrige le déficit enzymatique et la surproduction d'ALA et PBG. Le patient est définitivement guéri et ne fait plus jamais de crise.

En Angleterre, on a fait des transplantations domino. On transplante un foie à un patient PAI, il est guéri. Puis on transplante le foie du patient PAI à un 3e patient (souvent en phase terminale d'un cancer pour qu'il survive quelques mois de plus) qui va développer la Porphyrie uniquement dans le foie.

La thérapie génique: il y a eu un protocole fait en Espagne à partir de AAV5-rhPBGD (Adeno-Associated Virus). Mais la thérapie ne fonctionne pas car seulement 5% des hépatocytes seront transfectés avec laPBGD.

Il y a une nouvelle recherche thérapeutique qui rentre en phase III en France et aux Etats-Unis, c'est le siRNA anti ALAS1. Les résultats sont exceptionnelles pour l'instant, il y a une réduction de 75% de demande de Normosang®. Il y a donc un espoir pour les patients chroniques de les sevrer du Normosang®. On a également Moderna Therapeutics® qui va développer l'ARNm médicament. On injecte l'ARN qui est adressé à un compartiment cellulaire particulier. On peut l'adresser au foie par l'intermédiaire des récepteurs hépatocytaires. Les essais sont concluants chez la souris, il n'y a pas eu de crises pendant 15 jours.

Petite dédicace à Margot et Nolwenn qui nous ont aidés à survivre en P1 <3