

CESD et maladie de Wolman : aspects cliniques, biologiques et thérapeutiques, à propos de 19 observations

Le Pallec Ozenne Alexandra

▶ **To cite this version:**

Le Pallec Ozenne Alexandra. CESD et maladie de Wolman : aspects cliniques, biologiques et thérapeutiques, à propos de 19 observations. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03292780

HAL Id: dumas-03292780

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03292780

Submitted on 20 Jul 2021

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

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

UNIVERSITE DE ROUEN NORMANDIE

UFR SANTE – Département PHARMACIE

Année 2020-2021 N°

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 13 avril 2021
par
Alexandra LE PALLEC née *OZENNE*
Née à Rouen le 02 octobre 1991

CESD et maladie de Wolman : aspects cliniques, biologiques et thérapeutiques, à propos de 19 observations

PRESIDENT DU JURY :	Monsieur Le Professeur Loïc FAVENNEC, *Professeur des universités – UFR Santé Rouen* *Praticien hospitalier – C.H.U de Rouen*
DIRECTEUR DE THESE :	Madame Le Professeur Soumeya BEKRI, *Professeur des universités – UFR Santé Rouen* *Praticien hospitalier – C.H.U de Rouen*
CO-DIRECTEUR DE THESE :	Monsieur Le Professeur Loïc FAVENNEC
MEMBRES DU JURY :	Madame Le Docteur Stéphanie TORRE, *Praticien hospitalier – C.H.U de Rouen*
	Madame Le Docteur Virginie BESSOU *Pharmacien d'officine*

Remerciement

Au président du jury et co-directeur,

Monsieur le Professeur Loïc FAVENNEC

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury et de juger ce travail.

Je vous exprime ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

A Madame le Docteur Stéphanie TORRE,

Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et de juger ce travail

Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Virginie Bessou

Merci de m'avoir accueillie en stage au sein de votre officine. Travailler avec vous fut un réel plaisir et une expérience très enrichissante. Merci aussi à Madame Clavier et à votre super équipe.

Merci d'avoir accepté de faire partie du jury et de juger ce travail.

Je suis honorée de votre présence.

A ma directrice de thèse,

A Madame le Professeur Soumeya BEKRI,

Merci de m'avoir permis de faire ma thèse sur ce sujet.

Merci pour votre rigueur, pour toute l'aide que vous m'avez apportée pour l'élaboration de ce travail, le temps et la patience que vous y avez mis.

Je tiens à remercier également, **Madame le Docteur Bénédicte SUDRIE-ARNAUD** pour votre disponibilité, vos nombreuses relectures et votre soutien au cours de ce travail.

Ces remerciements ne peuvent s'achever sans une pensée pour ma famille et mes amis que j'ai eu la chance d'avoir à mes côtés, qui m'ont soutenue tout au long de ces années.

A mes parents, sans qui je ne serais pas là où j'en suis aujourd'hui. Merci pour l'éducation et l'amour que vous m'avez donnés, pour votre présence, et pour le soutien que vous n'avez jamais manqué de m'apporter. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon infinie reconnaissance, avec tout mon amour.

A mes sœurs**, Maéva et Anaïs**, mes « sœurettes », pour tous les bons moments passés ensemble qui sont gravés dans ma tête et dans mon cœur.

A mes beaux-parents, **Frédérique et Christophe**, merci de m'avoir acceptée au sein de votre famille, merci pour tous les bons moments partagés ensemble et votre bonne humeur.

A mes collègues, vous contribuez au bonheur que j'ai de venir travailler chaque jour.

A mes amis présents et passés, merci pour tous les bons moments partagés ensemble, vous avez su me réconforter et me remotiver dans les moments difficiles.

Et pour finir, à **Quentin** pour m'avoir facilitée la vie pendant ces années d'étude, pour ta présence dans les bons comme les mauvais moments, pour ton soutien indéfectible et ton amour. Merci de toujours voir le meilleur en moi.

« L'Université de Rouen et l'UFR de Médecine et de Pharmacie de Rouen n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions sont propres à leurs auteurs. »

Liste des enseignants-chercheurs

ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021

U.F.R. SANTÉ DE ROUEN

DOYEN : Professeur Benoît VEBER

ASSESSEURS : Professeur Loïc FAVENNEC

Professeur Agnès LIARD

Professeur Guillaume SAVOYE

MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle APTER	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc BASTE	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mme Sophie CANDON	HCN	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie

Mr Frédéric DI FIORE	CHB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CHB	Radiothérapie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER (surnombre)	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mme Julie GUEUDRY	HCN	Ophtalmologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Claude HOUDAYER	HCN	Génétique
Mr Fabrice JARDIN	CHB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénéréologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale

Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HCN	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HCN	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HCN	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépato-gastro-entérologie
Mr Benoit MISSET (détachement)	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc MURAINE	HCN	Ophtalmologie
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (détachement)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN (détachement)	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépato-gastrologie
Mme Céline SAVOYE–COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie

Mr Lilian SCHWARZ	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Hervé TILLY (surnombre)	CHB	Hématologie et transfusion
Mr Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Anatomie - Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HC	Rhumatologie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie
Mme Marie-Laure WELTER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Najate ACHAMRAH	HCN	Nutrition
Mme Elodie ALESSANDRI-GRADT	HCN	Virologie
Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Emmanuel BESNIER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Neurophysiologie
Mr Vianney GILARD	HCN	Neurochirurgie
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie

Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Florent MARGUET	HCN	Histologie
Mme Chloé MELCHIOR	HCN	Gastroentérologie
Mr Sébastien MIRANDA	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Thomas MOUREZ (détachement)	HCN	Virologie
Mr Gaël NICOLAS	UFR	Génétique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mr Abdellah TEBANI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr Julien WILS	HCN	Pharmacologie

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mr Thierry WABLE	UFR	Communication
Mme Mélanie AUVRAY-HAMEL	UFR	Anglais

ATTACHE TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE à MI-TEMPS

Mme Justine SAULNIER	UFR	Biologie

PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mr Jérémy BELLIEN (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie

Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Thomas CASTANHEIRO MATIAS	Chimie Organique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER (LE CLEZIO)	Statistiques
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla EL GHARBI-HAMZA	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Chervin HASSEL	Virologie
Mme Maryline LECOINTRE	Physiologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Toxicologie
Mr Jérémie MARTINET (MCU-PH)	Immunologie
Mr Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mme Caroline BERTOUX	Pharmacie

PAU-PH

Mr Mikaël DAOUPHARS

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES

Mme Alice MOISAN	Virologie
Mr Henri GONDÉ	Pharmacie

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mme Soukaina GUAOUA-ELJADDI	Informatique
Mme Clémence MEAUSOONE	Toxicologie

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT

Mme Ramla SALHI	Pharmacognosie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique

Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR MEDECINE GENERALE

Mr Jean-Loup HERMIL (PU-MG)	UFR	Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCE MEDECINE GENERALE

Mr Matthieu SCHUERS (MCU-MG)	UFR	Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Pascal BOULET	UFR	Médecine générale
Mr Emmanuel LEFEBVRE	UFR	Médecine Générale
Mme Elisabeth MAUVIARD	UFR	Médecine générale
Mr Philippe NGUYEN THANH	UFR	Médecine générale
Mme Yveline SEVRIN	UFR	Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mme Laëtitia BOURDON	UFR	Médecine Générale
Mme Elsa FAGOT-GRIFFIN	UFR	Médecine Générale
Mr Emmanuel HAZARD UFR Médecine Générale		
Mme Lucile PELLERIN	UFR	Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (med)	Neurosciences (Néovasc)
Mr Sylvain FRAINEAU (med)	Physiologie (Inserm U 1096)

Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel LETELLIER (med)	Physiologie
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Anne-Sophie PEZZINO	Orthophonie
Mme Christine RONDANINO (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var TAN	Immunologie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

DIRECTEUR ADMINISTRATIF : M. Jean-Sébastien VALET

HCN - Hôpital Charles Nicolle	*HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME*
CB - Centre Henri Becquerel	*CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray*
CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation	*SJ – Saint Julien Rouen*

Sommaire

Liste des figures 16
Lexique 17
Liste des abréviations 18
Introduction 21
I. Revue générale de la littérature 23
1. Qu'est ce qu'un lysosome ? 23
2. Les maladies lysosomales et leur classification 31
2.1. Classifications des MSL 31
2.2. Mécanismes physiopathologiques des maladies lysosomales (ML) 32
2.2.1. Théorie cytotoxique 32
2.2.2. Altération de l'homéostasie calcique 32
2.2.3. Stress oxydatif et radicaux libres 32
2.2.4. Processus inflammatoire 32
2.2.5. Altération du processus autophagique 33
3. Déficit en LAL 33
3.1. Etude moléculaire : maladie génétique autosomique 33
3.2. Mécanisme physiopathologique 35
3.3. Phénotype clinique 36
3.4. Traitement 37
3.4.1. Enzymothérapie substitutive 37
3.4.1.1. Principe 37
3.4.1.2. Kanuma® : expérience internationale 37
3.4.2. Transplantation de cellules souches hématopoïétiques (HSCT) 48
II. Patients et méthodes 50
1. Patients dépistés 50
2. Dosage de l'activité enzymatique 51
2.1. Produits chimiques et réactifs 51
2.2. Procédure d'extraction et de dosage des échantillons 51
3. Analyse moléculaire du gène *LIPA* en Next Generation Sequencing (NGS) 52
III. Résultats 57
IV. Discussion 66
V. Conclusion 70

Annexe 1 72
Annexe 2 74
Annexe 3 75
Annexe 4 78
Annexe 5 79
Annexe 6 80
Annexe 7 81
Bibliographie 84

Liste des figures

Figure 1: Lysosome 23

Figure 2: Régulation du TFEB médiée par mTORC1 24

Figure 3: Régulation du TFEB médiée par Ca^{2+} 25

Figure 4: Transport des hydrolases 26

Figure 5: Les fonctions multiples des lysosomes 27

Figure 6: Vue d'ensemble des mécanismes régulant la fonction des lysosomes 28

Figure 7: Complexe dictant le positionnement périnucléaire des lysosomes 28

Figure 8: Mécanisme de transport des endosomes et des lysosomes tardifs le long des microtubules 30

Figure 9: Variant E8SJM$^{-1/+1G > A}$ 35

Figure 10: Dysrégulation du métabolisme des lipoprotéines liée à un déficit en lipase acide lysosomale 36

Figure 11: Description de la cohorte 50

Figure 12: Fragment d'ADN avant séquençage 53

Figure 13: Amplification par pont (bridge PCR) de la technologie Illumina® 55

Figure 14: Principe du séquençage de l'ADN avec la technologie Illumina® 56

Figure 15: Distribution de l'activité enzymatique LAL entre les patients non-LALD, CESD et Wolman. 64

Figure 16: Symptômes présents au moment du diagnostic 65

Figure 17: Aperçu du phénotype clinique des patients CESD et Wolman 67

Figure 18: Variations moléculaires des dix-sept cas étudiés décrivant sept nouvelles variantes et sept variantes précédemment rapportées 68

Figure 19: Structure du substrat P-PMHC 69

Lexique

Autophagie : mécanisme d'auto-digestion vacuolaire responsable de l'élimination des organelles cellulaires

Cachexie : amaigrissement et fatigue généralisée

Hépatosplénomégalie : augmentation du volume du foie et de la rate

Hétérozygote : lorsque les deux variants parentaux sont différents

Homozygote : lorsque les deux variants parentaux sont identiques

Hyperhémie : présence d'une plus grande quantité de sang dans un organe ou une partie d'organe

Hypersplénisme : diminution des globules blancs, rouges et des plaquettes suite à une splénomégalie

Dosage multiplexe : permettant le dosage simultané de nombreux paramètres (exemple : mesure simultanée de plusieurs activités enzymatiques)

Séquence palindromique : Séquence d'ADN pouvant se lire de la même façon dans les deux sens par rapport à un point central soit sur le même brin (exemple : ATTGC.CGTTA), soit sur les deux brins (AACGTT et TTGCAA)

Splénomégalie : augmentation du volume de la rate

Stéatorrhée : diarrhée avec selles grasses

Liste des abréviations

4-MU	4-méthylumbelliférone
4MU-palmitate	4-méthylumbelliféryle palmitate
A	Adénine
ABCA1	ATP-binding cassette transporter-1 ou Transporteur-1 à cassette liant l'ATP
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADP	Adénosine Diphosphate
Ala	Alanine
ALAT	Alanine aminotransférase
Arg	Arginine
ASAT	Aspartate aminotransférase
Asp	Aspartate
ATP	Adénosine Triphosphate
C	Cytosine
CE	Esters de Cholestérol
CESD	Cholesteryl ester storage disease ou maladie de stockage des esters du cholestérol
CLEAR	Coordinated lysosomal expression and regulation ou éléments d'expression et de régulation lysosomiques coordonnées
DBS	Dried Blood Spots
DMSO	Diméthylsulfoxyde
E8SJM	Exon 8 Splice Junction Mutation
EIG	Evénements Indésirables Graves
FC	Flow Cell
G	Guanine
GGT	Gamma-Glutamyl Transférase
Gln	Glutamine
Gly	Glycine

GTP	Guanosine TriPhosphate
His	Histidine
HDL	High Density Lipoprotein ou lipoprotéines de haute densité
HL	Lipase hépatique
HMG-CoA	Hydroxy-Méthyl-Glutaryl-coenzyme A
HSCT	Transplantation de cellules souches hématopoïétiques
IDL	Intermediate Density Lipoprotein ou lipoprotéine de densité intermédiaire
KIF	Kinesin superfamily protein ou protéines de superfamille de kinésine
LAL	Lipase Acide Lysosomal
LAL-D	Déficience en Lipase Acide Lysosomal
LAMP	lysosome-associated membrane proteins (LAMP) ou Les protéines membranaires associées aux lysosomes
LCAT	lécithine-cholestérol acyltransférase
LC-MS/MS	chromatographie liquide-spectrométrie de masse en tandem
LDL	Low Density Lipoprotein, ou lipoprotéines de faible densité
Leu	Leucine
LPL	Lipoprotéine lipase
LXR	Liver X receptors ou récepteur nucléaire des oxystérols
M6P	Mannoses-6-phosphates
ML	Maladies Lysosomales
MiT	Microphthalmia-associated transcription ou transcription de type Microphthalmia (MiT)
MPS	Mucopolysaccharidose
NGS	Next Generation Sequencing ou séquençage de nouvelle génération – séquençage haut débit
ORP1L	Oxysterol-binding protein-related protein 1L ou la protéine 1L associée au capteur de cholestérol OSBP

PCR	Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérisation en chaîne
Pi	Phosphate inorganique
PI(3)P	PhosphatidylInositol-3-Phosphate
Pro	Proline
RCP	Résumés des Caractéristiques du produit
RILP	Rab-interacting lysosomal protein ou protéine lysosomale qui interagit avec Rab7 (RILP)
ROS	Reactive Oxygen Species ou espèces réactives de l'oxygène
Ser	Sérine
SREBP	Sterol regulatory element-binding protein ou protéines de liaison à l'élément de régulation des stérols
T	Thymine
Tyr	Tyrosine
TES	Traitement Enzymatique Substitutif
TFEB	Transcription factor EB ou facteur de transcription EB
VLDL	Very Low Density Lipoprotein ou lipoprotéine de très basse densité
VAMP	Vesicular Associated Membrane Protein ou Protéines membranaires associées aux vésicules
WD	Wolman Disease ou maladie de Wolman

Introduction

Les maladies héréditaires du métabolisme correspondent aux affections liées à un déficit d'origine génétique d'une enzyme ou d'un transporteur sur l'une des nombreuses voies métaboliques. Ces voies métaboliques permettent la transformation biochimique d'un composé en un autre et, par conséquent, la dégradation et la synthèse de molécules nécessaires à l'organisme. Ce déficit entraîne l'absence d'un composé situé en aval du déficit et/ou l'accumulation d'un composé potentiellement toxique situé en amont du déficit. Les maladies héréditaires du métabolisme peuvent être classées en 3 groupes par leur physiopathologie : les maladies par intoxication, les maladies par déficit énergétique, et les maladies des molécules complexes dont font partie les maladies lysosomales.

La maladie de Wolman et la Maladie de Stockage des Esters du Cholestérol (CESD) font parties des maladies lysosomales qui sont un sous-groupe des maladies héréditaires du métabolisme. Leur transmission est autosomique récessive. Elles sont causées par des variants pathogènes ou probablement pathogènes sur le gène *LIPA* qui code pour la lipase acide lysosomal (LAL). Ce déficit en LAL provoque l'accumulation, au sein des lysosomes, d'esters de cholestérol et de triglycérides responsable d'une atteinte plus ou moins progressive de nombreux organes (atteintes hépatiques, surrénaliennes, …).

L'absence complète d'activité de la LAL cause la maladie de Wolman, forme infantile la plus rapidement évolutive qui est fatale dans les premiers mois de la vie en l'absence de traitement. On observe une apparition plus tardive de la CESD du fait que la LAL conserve une certaine activité résiduelle. La gravité de la maladie est corrélée à la sévérité du déficit en LAL *(Bernstein et al., 2013; Pastores and Hughes, 2020)*.

La prévalence estimée à partir des études génétiques est d'environ 1/500 000 pour la maladie de Wolman et de 1/40 000 pour la CESD *(Bernstein et al., 2013; Meikle et al., 1999; Reiner et al., 2014)*. Cette estimation est en conflit avec le petit nombre de cas de LAL-D rapportés dans la littérature, indiquant que ces maladies sont considérablement sous-diagnostiquées. Pourtant le diagnostic précoce conditionne le pronostic compte tenu de la disponibilité récente d'une nouvelle thérapie.

En effet, depuis 2015, la sebelipase α (Kanuma®) est commercialisée en Europe. Il s'agit d'un traitement enzymatique substitutif (TES) produit par génie génétique qui révolutionne la prise en charge de la LAL-D.

Dans cette thèse après une revue de la littérature couvrant les aspects cliniques, physiopathologiques et thérapeutiques de ces maladies, nous discuterons de dix-neuf patients atteints de LAL-D diagnostiqués au CHU de Rouen entre 2015 et 2019.

I. Revue générale de la littérature

1. Qu'est ce qu'un lysosome ?

Les lysosomes sont des organites intracellulaires de 0,2 à 0,5 micron présents dans le cytosol de toutes les cellules eucaryotes à l'exception des érythrocytes.

Les lysosomes peuvent être représentés comme le système digestif de la cellule, servant à la fois à dégrader les matériaux prélevés à l'extérieur de la cellule par endocytose ou phagocytose et à digérer les composants obsolètes de la cellule elle-même par autophagie. Ils sont capables de dégrader un grand nombre de molécules biologiques : protéine, acide nucléique, polysaccharides et lipides.

La membrane lysosomale est issue des saccules trans-golgiens et contient des protéines membranaires et des pompes à protons afin de maintenir un pH luminal acide (4,5-5) nécessaire à l'activité optimale d'une soixantaine d'enzymes appelées hydrolases acides (protéases, nucléases, lipases, phospholipases, glycosidases, phosphatases, sulfatases). La membrane comprend également des transporteurs d'ions et des canaux qui régulent la composition des ions luminaux, plusieurs autres transporteurs qui exportent les produits de dégradation du cytosol, un ensemble de protéines membranaires associées aux lysosomes (LAMP) hautement glycosylées qui protègent la membrane de la dégradation par les hydrolases lysosomales, et des facteurs de liaison et des protéines SNARE qui favorisent respectivement le contact et la fusion des lysosomes avec d'autres organites cytoplasmiques *(Pu et al., 2016)*.

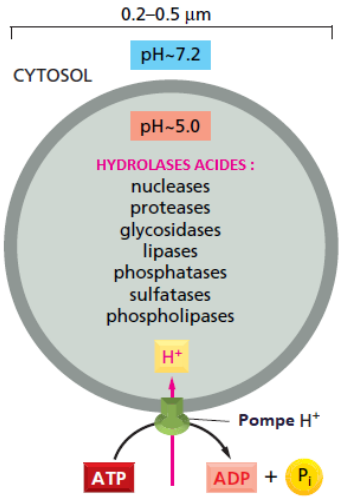


Figure 1: Lysosome (Alberts et al., 2008)

La biogenèse des lysosomes est contrôlée par le facteur de transcription EB (TFEB) appartenant à la famille des facteurs de transcription de type Microphthalmia (MiT). Les études des promoteurs des gènes lysosomaux ont révélé que de nombreux gènes codant pour les protéines lysosomales partagent une séquence palindromique, désignée comme « éléments d'expression et de régulation lysosomiques coordonnées » (CLEAR). Le TFEB se lie à ces séquences et déclenche l'expression de gènes lysosomaux, entraînant une augmentation du nombre de lysosomes et des niveaux plus élevés d'enzymes lysosomales *(Marques and Saftig, 2019)*. Le lysosome régule sa propre biogenèse en contrôlant la localisation du TFEB. En condition normale, le TFEB est situé à la fois dans le cytosol et sur la surface lysosomale où il interagit et est phosphorylé par mTORC1. Cela maintient le TFEB inactif par séquestration cytosolique. Cependant dans des conditions spécifiques, telles que la famine ou la dysfonction lysosomale, mTORC1 devient inactif ce qui induit la translocation nucléaire du TFEB déphosphorylé et permet la transcription d'un certain nombre de gènes codant pour des protéines impliquées dans des fonctions lysosomales.

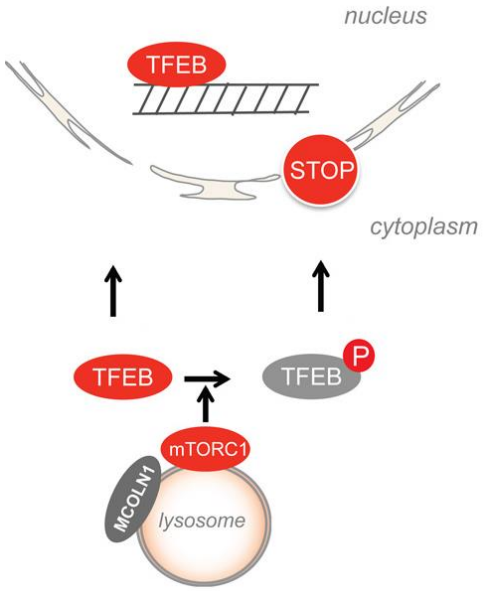


Figure 2: Régulation du TFEB médiée par mTORC1

Une signalisation calcique provenant des lysosomes participe aussi à la translocation de TFEB dans le noyau. La diminution en nutriments induit une libération de calcium via le canal calcique lysosomal MCOLN1 (aussi appelé mucolipine 1). Cette libération locale de calcium active la calcineurine qui déphosphoryle TFEB favorisant ainsi sa translocation nucléaire. *(Marques and Saftig, 2019)*

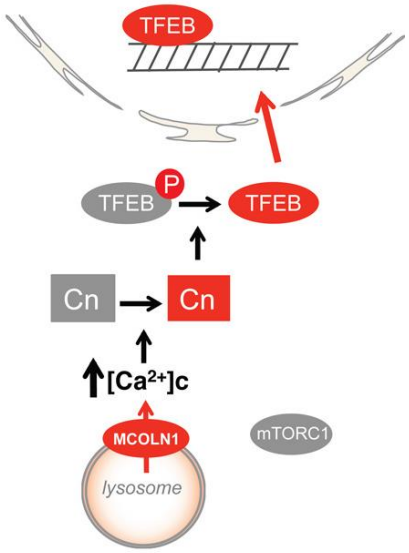


Figure 3: Régulation du TFEB médiée par Ca $^{2+}$(Medina et al., 2015)

Les hydrolases lysosomales sont synthétisées au niveau des ribosomes puis sont transloquées dans la lumière du réticulum endoplasmique rugueux où elles subissent une N-glycosylation.

Une fois transférées dans l'appareil de Golgi, les hydrolases sont les substrats de deux enzymes séquentiels qui génèrent le signal de ciblage lysosomal. La première enzyme est N-acetylglucosamine-1-phosphotransférase. Cette enzyme modifie les chaînes glucidiques des hydrolases en additionnant un N-acetylglucosamine-phosphate en position 6 d'une ou de plusieurs molécules terminales de mannose. La deuxième enzyme (la phosphodiesterase, N-acétylglucosaminidase) hydrolyse la liaison GlcNAc-phosphate pour donner naissance aux mannoses-6-phosphates (M6P) en position terminale qui sont les ligands du tri. En effet, l'acquisition du M6P va distinguer les glycoprotéines adressées au lysosome (M6P+) de celles destinées à être secrétées (M6P-).

À leur arrivée dans le réseau trans-golgien, les résidus mannose-6-phosphate se lient aux récepteurs du M6P qui reconnaissent donc spécifiquement les hydrolases lysosomales phosphorylées.

Ces récepteurs, sur lesquels se fixent les hydrolases lysosomales, se lient par leur domaine cytosolique à des adaptines et se concentrent dans des puits recouverts de clathrine qui bourgeonnent pour former des vésicules recouvertes. Ces vésicules perdent ensuite leur enveloppe et fusionnent de façon spécifique avec un endosome précoce qui, après acidification supplémentaire, devient un endosome tardif. La libération des hydrolases lysosomales dans l'endosome tardif est provoquée par le pH acide de ce compartiment. En effet, le M6P se fixe sur son récepteur à pH 6,5-6,7 (pH du compartiment trans) et s'en dissocie à pH 6, pH de l'endosome tardif. Les hydrolases libérées vont subir une maturation finale (par protéolyse, déphosphorylation, modification conformationnelle et agrégation) pour former des enzymes matures et fonctionnelles. Après avoir libéré leurs enzymes, les récepteurs sont recyclés vers la membrane du compartiment trans du Golgi (recyclage membranaire) dans des vésicules recouvertes de rétromères et les hydrolases matures peuvent alors réaliser leur fonction de dégradation avec une spécificité pour leur substrat.

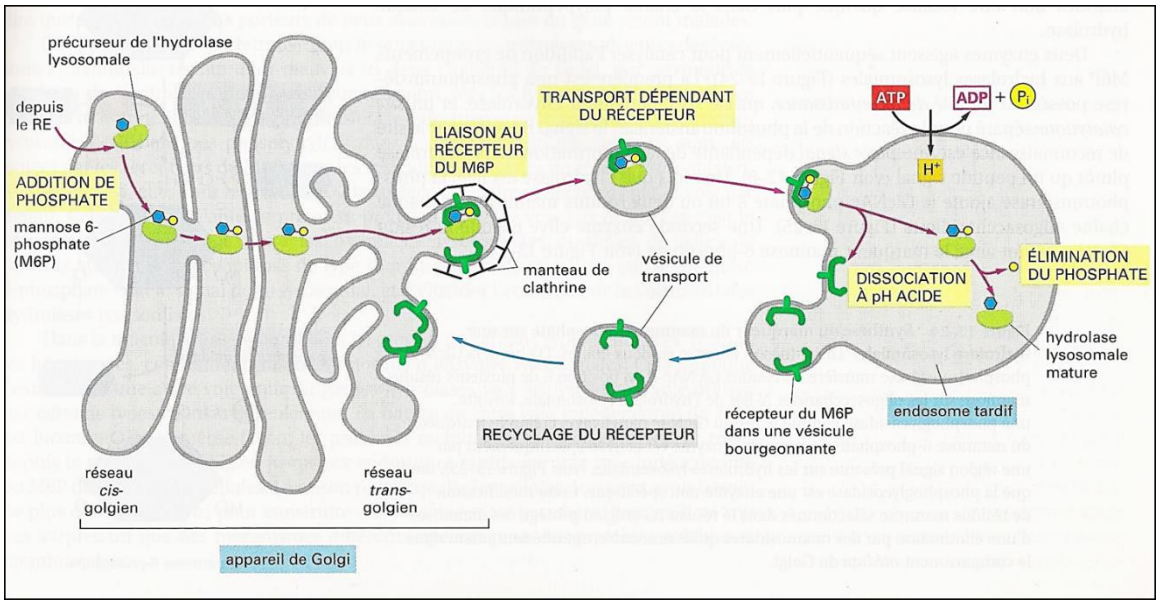


Figure 4: Transport des hydrolases (Alberts et al., 2008)

Ces dernières années, il a été défini que les fonctions du lysosome vont au-delà de la seule fonction de dégradation. En effet, le lysosome participe à de nombreux autres processus cellulaires, y compris la destruction des agents pathogènes intracellulaires, la présentation de l'antigène, la réparation de la membrane plasmique, l'adhésion et la migration des cellules, l'invasion et les métastases tumorales, l'apoptose, la signalisation métabolique et la régulation des gènes. L'implication des lysosomes dans ces processus dépend de leur capacité à se déplacer dans le cytoplasme *(Pu et al., 2016)*.

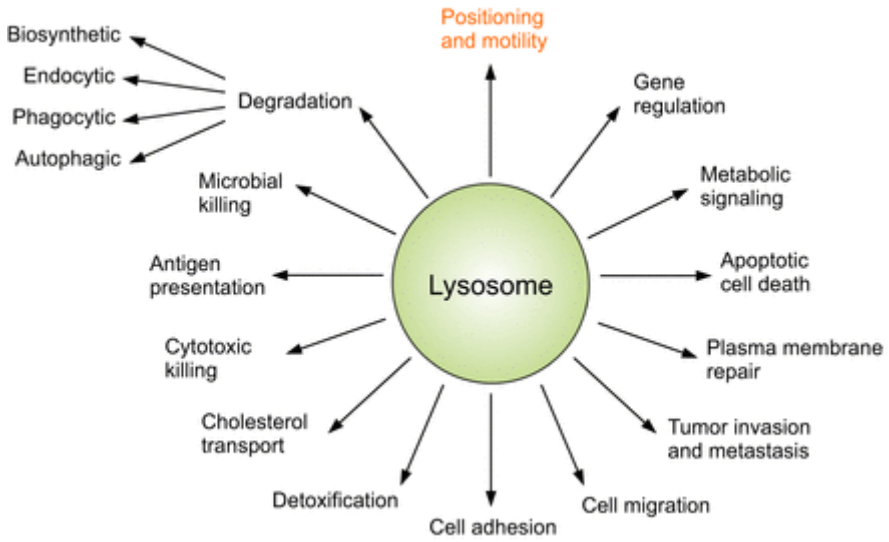


Figure 5: Les fonctions multiples des lysosomes (Pu et al., 2016)

En effet, les lysosomes sont des organites hautement dynamiques et se répartissent dans un pool périnucléaire situé autour du centre d'organisation des microtubules (MTOC) et un pool à la périphérie cellulaire. Ces populations se distinguent par leur pH intra-luminal et des activités différentes. Dans des conditions normales, la plupart des lysosomes sont situés dans le nuage périnucléaire et sont plus acides (pH 4,5 à 5,5) que les lysosomes périphériques. L'homéostasie à l'échelle de la cellule est maintenue par deux types de déplacement des lysosomes

(1) Les lysosomes du pool périphérique se déplacent le long des filaments d'actine
(2) Les échanges entre les 2 pools de lysosomes font intervenir des protéines motrices se déplaçant le long des composants du cytosquelette *(Marques and Saftig, 2019)*.

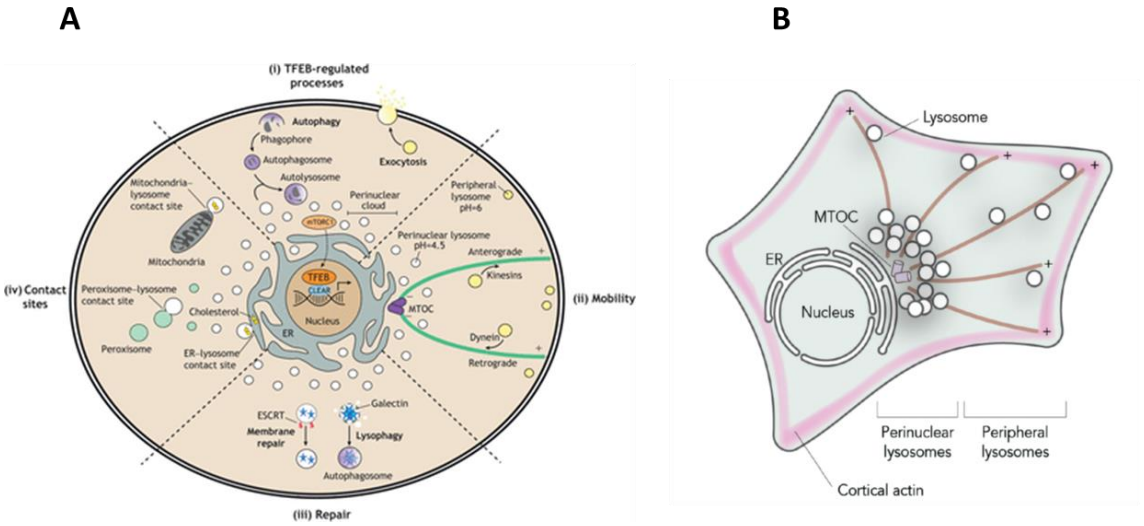


Figure 6: A. Vue d'ensemble des mécanismes régulant la fonction des lysosomes (Marques and Saftig, 2019)
B. Déplacement des lysosomes périphériques sur les filaments d'actine et échanges entre les pools périphériques et périnucléaire

Le nuage périnucléaire est contrôlé par une ligase appelée RNF26 localisée dans le réticulum endoplasmique (ER). RNF26 se lie à p62/ubiquitine qui interagit ensuite avec des adaptateurs d'ubiquitine sur les différents ensembles endosomaux pour les arrêter dans la région périnucléaire. Ce nuage périnucléaire semble être un site de maturation des endosomes et de métabolisation des substrats. À un moment donné, les endosomes quittent le nuage, ce qui implique la deubiquitination de p62 par l'enzyme de deubiquitination USP15, et commencent leur voyage rapide vers la périphérie le long des microtubules *(Cabukusta and Neefjes, 2018)*.

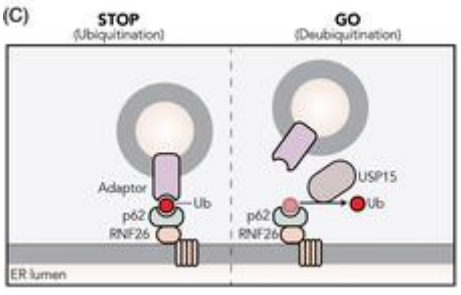


Figure 7: Complexe dictant le positionnement périnucléaire des lysosomes (Cabukusta and Neefjes, 2018)

Les lysosomes se déplacent de manière bidirectionnelle « stop and go » le long des microtubules. Le mouvement antérograde, vers la périphérie cellulaire, est régi par les moteurs de kinésine, tandis que les moteurs de dynéine médient le mouvement rétrograde vers la région périnucléaire.

Le génome humain code pour environ 40 protéines de superfamille de kinésine (KIF), tous les KIF comprennent un domaine moteur globulaire qui se fixe aux microtubules et un domaine de queue qui interagit avec des adaptateurs ou des cargaisons spécifiques. L'hydrolyse de l'ATP par le domaine moteur fournit la force motrice.

Le transport antérograde dépend de plusieurs kinésines, y compris la kinésine-1, la kinésine-2, la kinésine-3 et la kinésine-13 et plusieurs mécanismes ont été identifiés.

L'un de ces mécanismes utilise une GTPase Rab7 qui, lorsqu'elle est activée dans son état lié au GTP, marque les endosomes. Rab7 activée recrute ensuite une protéine effectrice FYC01 qui, en combinaison avec le phosphatidylinositol 3-phosphate (PI(3)P), recrute le moteur kinésine-1.

Un mécanisme alternatif pour le couplage des endosomes tardifs à la kinésine-1 implique la protrudine ancrée au réticulum endoplasmique, qui se lie simultanément à Rab7 et au PI(3)P endosomal. Ce contact favorise le chargement de la kinésine-1 sur le domaine effecteur Rab7/FYCO1.

Un autre mécanisme fait intervenir le complexe lysosomal multiprotéique BORC pouvant activer la GTPase Arl8 qui recrute ensuite l'effecteur SKIP pour s'engager dans le transport antérograde via un moteur kinésine *(Cabukusta and Neefjes, 2018; Pu et al., 2016)*.

Concernant le transport rétrograde, une seule protéine de dynéine est impliquée dans le transport des endosomes. La dynéine est un complexe multimère comprenant deux chaînes lourdes, deux chaînes intermédiaires, deux chaînes intermédiaires légères et plusieurs chaînes légères. La dynéine interagit avec la dynactine, un autre complexe multimérique composé de plus de 20 sous-unités correspondant à 11 protéines différentes. La dynéine s'associe aux lysosomes de manière dépendante de la dynactine.

Le recrutement de la dynéine – dynactine dépend principalement de Rab7, mais il y a plusieurs effecteurs en aval. L'un de ces effecteurs est la protéine lysosomale qui interagit avec Rab7 (RILP), qui relie Rab7 à la dynéine – dynactine. Un effecteur supplémentaire, la protéine 1L associée au capteur de cholestérol OSBP (ORP1L), forme un complexe avec Rab7 et RILP, favorisant l'association de la spectrine βIII liée à la membrane avec la dynéine – dynactine à travers la sous-unité Arp1.

L’interaction de ces effecteurs avec rab7 entraîne l'activation du moteur de la dynéine. La capacité d'ORP1L à s'engager dans ces interactions dépend des niveaux de cholestérol. Dans des conditions de faible cholestérol, ORP1L se lie à la protéine VAPA (protéine A associée aux protéines membranaires associées aux vésicules (VAMP)), forçant la dissociation de la dynéine – dynactine des lysosomes et provoquant la dispersion de ces organites à la périphérie cellulaire. En revanche, dans des conditions de cholestérol élevé, l'ORP1L n'interagit pas avec VAPA, et l'association des lysosomes à la dynéine – dynactine entraîne leur mouvement vers la région périnucléaire.

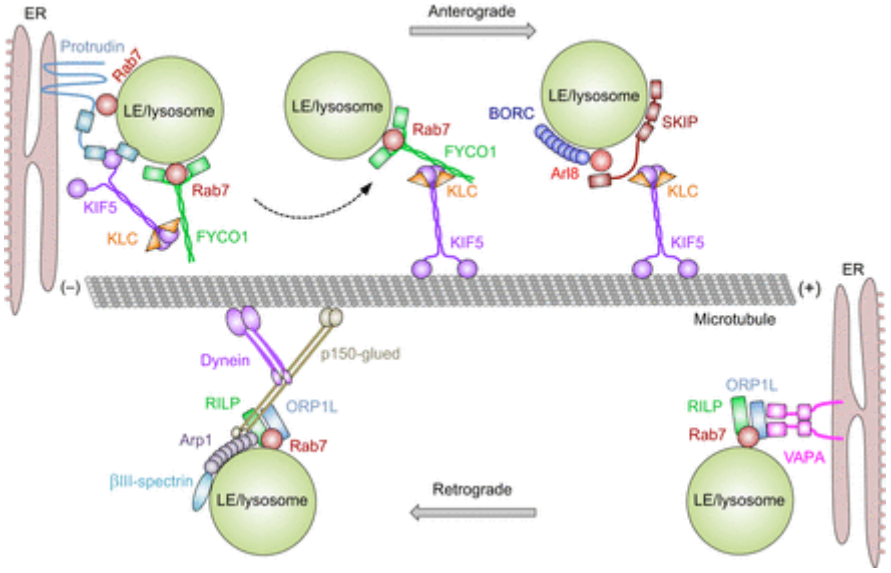


Figure 8: Mécanisme de transport des endosomes et des lysosomes tardifs le long des microtubules (Pu et al., 2016)

En plus des moteurs des microtubules, il existe des interactions avec le réseau d'actine corticale via les moteurs de myosine provoquant une rétention transitoire des lysosomes à la périphérie cellulaire *(Pu et al., 2016)*.

La distribution spatiale des lysosomes dépend également des interactions avec d’autres organites tels que le réticulum endoplasmique, le réseau trans-Golgi, les peroxysomes ou encore la mitochondrie. Ces interactions sont indispensables pour le bon fonctionnement de ces organites et la fonction cellulaire. Il n’est donc pas surprenant que, dans les maladies lysosomales, un dysfonctionnement de ces organites puisse être observé *(Cabukusta and Neefjes, 2018; Marques and Saftig, 2019; Pu et al., 2016)*.

2. Les maladies lysosomales et leur classification

Les maladies lysosomales (ML) constituent un groupe d'une cinquantaine d'affections génétiques distinctes de transmission autosomique récessive *(Vitner et al., 2010)* pour la majorité d'entre elles (à l'exception de la maladie de Fabry, de Danon et de Hunter ou MPSII dont la transmission est liée à l'X). Les maladies lysosomales ont une prévalence globale estimée à 1 cas sur 7700 naissances *(Meikle et al., 1999)*. Toutes les MSL résultent d'une origine semblable : un variant génétique qui provoque une déficience en enzymes lysosomales spécifiques, en protéines lysosomales non enzymatiques ou encore en protéines non lysosomales impliquées dans la biogenèse lysosomale. La caractéristique biochimique commune de ces maladies est l'accumulation intralysosomale de métabolite de nature endogène ou exogène non ou partiellement dégradé, perturbant le bon fonctionnement cellulaire. Cependant, même si toutes les MSL ont une cause similaire, les signes et les symptômes de chacune d'entre elles sont très variés.

2.1. Classifications des MSL

Il existe deux classifications des MSL *(Filocamo and Morrone, 2011)*. La première classification (annexe 1), très usuelle, est basée sur la nature du substrat accumulé. Les pathologies sont respectivement classées en sphingolipidoses, mucopolysaccharidoses (MPS), et glycoprotéinoses, lorsque les produits accumulés sont des sphingolipides, des glycosaminogycanes (ou GAG), ou des oligosaccharides.

La deuxième classification (annexe 2) permet de prendre en compte le défaut moléculaire.

Dans cette dernière, on distingue les maladies dues à :

- des défauts protéiques lysosomaux non enzymatiques
- des défauts protéiques transmembranaires (transporteurs et protéines structurales)
- des défauts de protection des enzymes lysosomales
- des défauts de traitement post-traductionnels des enzymes lysosomales;
- des défauts de trafic dans les enzymes lysosomales;
- des défauts de dégradation du polypeptide

2.2. Mécanismes physiopathologiques des maladies lysosomales (ML)

De nombreuses hypothèses ont été avancées au cours des dernières années sur les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les ML. L'accumulation de substrats non métabolisés a pour conséquence l'activation de cascades pathogènes responsables au final des dégâts cellulaires.

2.2.1. Théorie cytotoxique

L'accumulation de substrat au niveau cellulaire induit par simple effet mécanique une altération de la physiologie puis la mort des cellules.

2.2.2. Altération de l'homéostasie calcique

L'altération de la signalisation calcique intracellulaire est apparue comme une voie commune dans les MSL. En effet, le calcium joue un rôle essentiel dans la régulation cellulaire, une altération de l'homéostasie calcique conduit à un stress du réticulum endoplasmique, au stress oxydatif et à la mort cellulaire. Cependant, le mécanisme conduisant à l'altération de l'homéostasie calcique est différent selon les maladies *(Vitner et al., 2010) (Boustany, 2013)*.

2.2.3. Stress oxydatif et radicaux libres

L'augmentation de la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), semble jouer un rôle central dans la mort cellulaire de nombreuses MSL. Par exemple, dans le MPS IIIb, le stress oxydatif observé va provoquer des effets nocifs, par oxydation des lipides, des protéines ou de l'ADN *(Vitner et al., 2010)*.

Toutefois, il faut considérer, ce stress comme une réponse cellulaire secondaire à d'autres processus pathologiques, et non comme un effet direct de l'accumulation du composé non métabolisé.

2.2.4. Processus inflammatoire

La réaction inflammatoire est un évènement précoce dans la physiopathologie de nombreuses MSL. L'accumulation de substrats non métabolisés entraine une activation inappropriée du système immunitaire générant une inflammation chronique *(Vitner et al., 2010) (Boustany, 2013)*.

2.2.5. Altération du processus autophagique

Le lysosome est étroitement lié aux systèmes autophagosomiques. La fusion de l'autophagosome avec le lysosome est une étape cruciale pour la dégradation des organelles cellulaires et le renouvellement cellulaire.

Deux altérations du processus autophagique sont rapportées : son induction et son blocage partiel.

En effet, la surcharge primaire induite par les déficits en enzymes lysosomales, pourrait affecter l'efficacité de la fusion entre les autophagosomes et les lysosomes, conduisant à un blocage partiel de l'autophagie et une rétroaction compensatoire entrainant une induction d'un processus autophagique inefficace. Par conséquent, il y a une accumulation secondaire de substrats autophagiques, tels que les agrégats protéiques toxiques et les mitochondries défectueuses. Cette surcharge secondaire favorise la mort cellulaire. La réponse inflammatoire aux dommages cellulaires contribue également à la mort cellulaire *(Vitner et al., 2010) (Boustany, 2013)*.

3. Déficit en LAL

3.1. Etude moléculaire : maladie génétique autosomique

La maladie de Wolman et la CESD ont été décrites pour la première fois en 1956 et en 1963, respectivement *(Abramov et al., 1956; Bernstein et al., 2013)*. Ce sont des maladies héréditaires autosomiques récessives causées par des variants pathogènes ou probablement pathogènes sur le gène *LIPA* qui code pour la LAL, enzyme lysosomale déficiente dans ces maladies.

Ce gène est situé sur le bras long du chromosome 10 en position 23 (10q23.2-q23.3) *(Meikle et al., 1999)*. Il a une taille d'environ 36kb et comprend 10 exons. Le gène code pour une protéine de 399 acides aminés ayant une masse de 46kDa *(Anderson et al., 1993) (Bernstein et al., 2013)*.

A ce jour, plus de 100 variants ont été identifiés *(Bernstein et al., 2013)*.

Dans la maladie de Wolman, la plupart des variants (37%) sont de petites délétions ou insertions, on trouve également 26% de variants de type non-sens, 10% de variants de

type faux-sens, 21% de variants au niveau du site d'épissage, et 5% de délétions importantes.

Dans la CESD, 50% des variants sont de type faux-sens, 25% sont des petites délétions / insertions, 16% de variants de type non-sens, 6% de variants au niveau du site d'épissage et 3% de délétions importantes *(Bernstein et al., 2013)*.

Les insertions et délétions entraînent un décalage du cadre de lecture. Les nouveaux codons sont traduits en une nouvelle séquence d'acides aminés, pouvant conduire à la production d'une enzyme déficiente.

Le variant de type non-sens est un changement de nucléotide provoquant l'apparition d'un codon stop à la place d'un acide aminé. L'enzyme produite est alors tronquée.

Le variant de type faux-sens se traduit par un remplacement d'un nucléotide par un autre conduisant à un changement d'acide aminé dans la LAL.

Le défaut le plus fréquemment hérité, chez les patients atteints de CESD, est un variant au niveau du site d'épissage de l'exon 8, E8SJM$^{-1G>A}$ (NM_000235: c.894G> A - p.(Gln298 =)).

Elle correspond à une substitution d'une guanine en adénine en position -1 du site donneur d'épissage de l'exon 8. Ce variant n'entraine pas de changement d'acide aminé (p.Gln298=) en raison de la redondance du code génétique; néanmoins, il introduit un site d'épissage alternatif au niveau de l'ARNm, et entraine une délétion de l'exon 8 et une protéine plus courte de 24 acides aminés. Cette enzyme tronquée est sans activité, mais le défaut d'épissage permet l'expression d'environ 3-5% de LAL épissée normalement ce qui conduit à une certaine activité enzymatique résiduelle *(Consuelo-Sánchez et al., 2019; Meikle et al., 1999; Scott et al., 2013)*.

Un saut du même exon a également été observé chez des patients atteints de la maladie de Wolman. Cependant, la substitution de G en A était dans la position +1 du site donneur d'épissage de l'exon 8 E8SJM$^{+1G>A}$ (c.894+1G> A) et affecte l'un des nucléotides invariables des séquences consensus d'épissage. Un autre variant a été observé pour la maladie de Wolman : E8SJM$^{-3C>T}$ (c.892C> T) qui correspond à une substitution de C en T en position -3 du site donneur d'épissage de l'exon 8 conduisant

à un codon non-sens (p.Gln298*) et à un arrêt prématuré de la protéine LAL. Dans les deux cas, il n'y a pas d'activité résiduelle *(Ries et al., 1996; Scott et al., 2013)*.

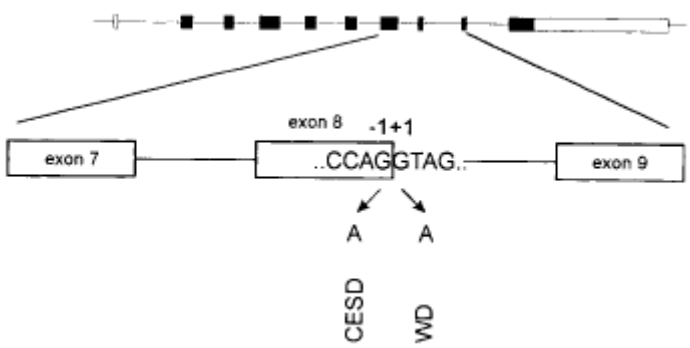


Figure 9: Variant E8SJM$^{-1/+1G>A}$ - Genetic and Biochemical Evidence That CESD and Wolman Disease Are Distinguished by Residual Lysosomal Acid Lipase Activity

3.2. Mécanisme physiopathologique

La LAL a pour fonction l'hydrolyse intralysosomale dans les hépatocytes des esters de cholestérol et des triglycérides provenant des LDL en cholestérol libre et acides gras libres.

La déficience en LAL, entraîne une accumulation lysosomale progressive des esters de cholestérol (CE), et dans une moindre mesure, les triglycérides, principalement dans le foie, les glandes surrénales, la rate, les intestins, et le système cardiovasculaire. L'implication des tissus est étroitement liée à leur participation relative à l'endocytose médiée par les récepteurs et à la dégradation lysosomale des lipoprotéines. Cette incapacité à hydrolyser les esters de cholestérol et les triglycérides altère la production d'acide gras et de cholestérol libre. La production réduite de cholestérol libre entraîne une activation accrue de la voie SREBP, ce qui augmente la synthèse de novo du cholestérol, et une inhibition de la voie LXR, ce qui diminue l'expression d'ABCA1, l'efflux du cholestérol libre et altère la formation de HDL *(Bowden et al., 2011; Goldstein et al., 1975; Pritchard et al., 2020)*.

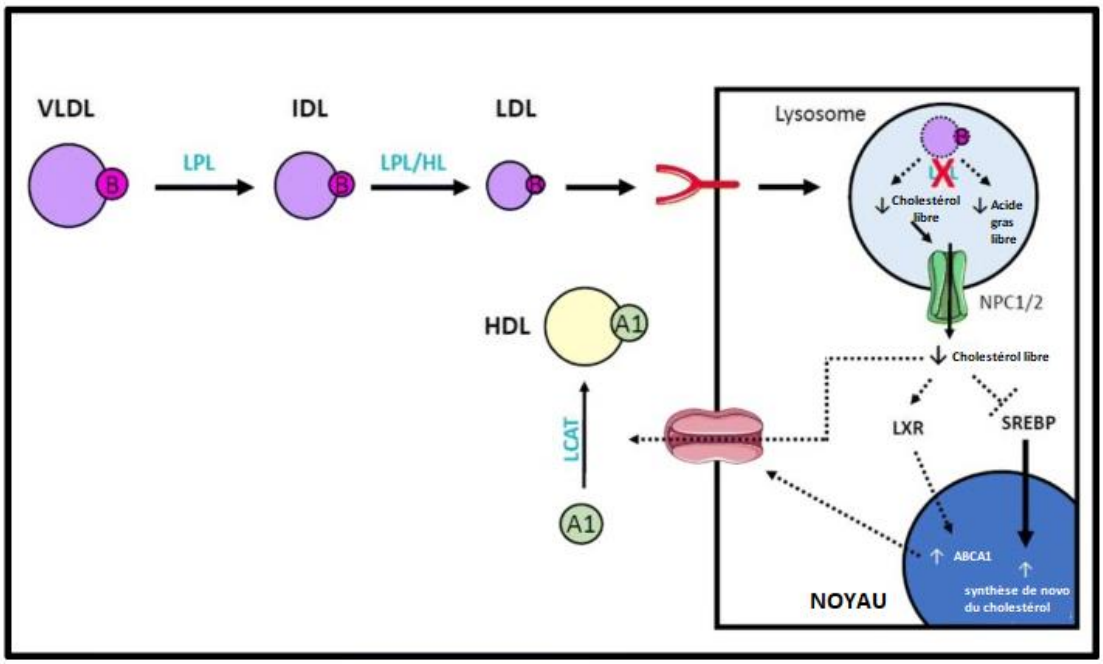


Figure 10: Dysrégulation du métabolisme des lipoprotéines liée à un déficit en lipase acide lysosomale

3.3. Phénotype clinique

La WD correspond à la forme la plus sévère du déficit en LAL survenant généralement dans la période néonatale. L'activité de la LAL est absente ou inférieure à 1%, entraînant une accumulation massive de CE et de triglycérides, principalement dans le foie, la rate, les surrénales, la moelle osseuse, les ganglions lymphatiques et macrophages dans tout le corps, en particulier dans les villosités intestinales. Les nourrissons atteints présentent des vomissements prolongés, persistants associés à une distension abdominale, et à une stéatorrhée. Dans certains cas, il y a présence d'ictère et de fièvre. L'examen physique révèle une hépatosplénomégalie avec hypertrophie hépatique prédominante associée à une cholestase et à une fibrose évoluant rapidement vers une insuffisance hépatique. Environ 50% des patients ont des calcifications des surrénales.

D'un point de vue biologique, on observe une élévation des transaminases sériques (≥ 1,5 fois la limite de référence supérieure) : alanine aminotransférase (ALAT) et/ou l'aspartate aminotransférase (ASAT), une concentration élevée de LDL cholestérol (N<1,3g/L) et de triglycérides (N<1,33g/L), tandis que le HDL cholestérol (N>0,45g/L) est diminué. Un hypersplénisme est également observé.

Les difficultés d'alimentation et la malabsorption conduisent à la malnutrition, au retard de croissance, à la cachexie, qui contribuent au décès dans les premiers mois de vie.

Le CESD est un sous-type de la maladie de Wolman d'apparition tardive, qui peut se manifester dans la petite enfance, l'enfance ou l'âge adulte, selon l'activité résiduelle de la LAL généralement comprise entre 1 et 12%. L'accumulation progressive de CE et de triglycérides lysosomaux entraine une stéatose microvésiculaire, conduisant à la fibrose, à la cirrhose micronodulaire et finalement à l'insuffisance hépatique. L'élévation des transaminases sériques et l'hépatomégalie sont des signes précoces d'insuffisance hépatique. La plupart des patients présentent une dyslipidémie avec des concentrations en LDL-c et triglycérides élevées, tandis que le HDL-c est diminué (hyperlipoprotéinémie de type IIb) *(Bernstein et al., 2013)*. Cette dyslipidémie chronique conduit à une athérosclérose précoce.

3.4. Traitement

3.4.1. Enzymothérapie substitutive

3.4.1.1. Principe

Le traitement enzymatique substitutif (TES) consiste à l'administration au patient d'une enzyme déficiente pour la pathologie dont il est atteint. Elle consiste donc à augmenter la concentration de cette enzyme manquante et permettre la dégradation du substrat accumulé dans les cellules de l'organisme. L'enzymothérapie substitutive dans les MSL est basée sur le fait que l'enzyme native possède un résidu mannose-6-phosphate permettant un adressage spécifique dans le lysosome *(Germain et al., 2010)*.

3.4.1.2. Kanuma® : expérience internationale

❖ Indication :

Kanuma® est indiqué pour le traitement enzymatique substitutif à long terme chez des patients de tout âge atteints d'un déficit en lipase acide lysosomale.

❖ Mécanisme d'action :

La sebelipase alfa se lie aux récepteurs de surface cellulaires par l'intermédiaire des glycanes exprimés sur les protéines pour être ensuite internalisée dans les lysosomes. La sebelipase alfa catalyse l'hydrolyse lysosomale des esters de cholestérol et des triglycérides en cholestérol libre, glycérol et acides gras libres. Le remplacement de l'activité enzymatique de la LAL entraîne des réductions du contenu hépatique en

graisse et des transaminases et favorise le métabolisme des esters de cholestérol et des triglycérides dans le lysosome, ce qui conduit à des réductions du LDL-c, du non-HDL-c et des triglycérides, ainsi qu'à des augmentations du HDL-c *("Résumé des caractéristiques du produit - KANUMA 2 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - European Medicines Agency," 2015)*.

- Mode de fabrication :

La sebelipase alfa est une LAL humaine recombinante produite dans le blanc d'œuf issu de *Gallus* transgéniques par la technologie de l'ADN recombinant (rADN) *("Résumé des caractéristiques du produit - KANUMA 2 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - European Medicines Agency," 2015)*.

- Posologie :

Nourrissons (âgés de < 6 mois) : La dose initiale recommandée chez les patients avec une forme de progression rapide est de 1 mg/kg administrée sous forme de perfusion intraveineuse une fois par semaine à mettre en place le plus rapidement possible d'où l'importance de faire le diagnostic précocement. Une augmentation de la dose à 3 mg/kg une fois par semaine doit être envisagée en fonction de la réponse clinique.

Enfants et adultes : La dose recommandée chez les patients ne présentant pas un déficit en LAL en progression rapide avant l'âge de 6 mois est de 1 mg/kg administrée sous forme de perfusion intraveineuse une fois toutes les deux semaines.

- Mode d'administration :

Il est recommandé de laisser les flacons de KANUMA® atteindre une température comprise entre 15 °C et 25 ºC avant la reconstitution afin de minimiser les risques de formation de particules de protéines de sebelipase alfa dans la solution. Les flacons ne doivent pas être agités.

KANUMA® 2mg/ml doit être dilué avec une solution de chlorure de sodium à 9 mg/ml (0,9 %) dans des conditions stériles. La solution doit être mélangée délicatement et ne pas être agitée. Elle doit être administrée en environ 2 heures par voie intraveineuse à l'aide d'un dispositif de perfusion muni d'un filtre de 0,2 µm en ligne à faible taux d'absorption des protéines, ayant si possible, une surface supérieure à 4,5 cm^2 de façon à éviter l'obstruction du filtre.

Le nombre de flacons à diluer et le volume de perfusion dépendent de la dose prescrite et doit être préparé à une concentration finale de sebelipase alfa de 0,1 à 1,5 mg/ml *("Résumé des caractéristiques du produit - KANUMA 2 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - European Medicines Agency," 2015*) .

Intervalle de poids (kg)	Volume total de perfusion (ml)
1-10	10
11-24	25
25-49	50
50-99	100
100-120	250

Tableau 1: Volumes totaux de perfusion en fonction de l'intervalle de poids ("Résumé des caractéristiques du produit - KANUMA 2 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - European Medicines Agency," 2015)

- Mode et durée de conservation :

Les flacons ne doivent pas être laissés hors du réfrigérateur plus de 24 heures avant la dilution pour la perfusion. Les flacons ne doivent pas être congelés, chauffés ou passés au micro-ondes et doivent être conservés à l'abri de la lumière.

- Efficacité du traitement dans les formes de LAL-D rapidement progressives ayant débuté chez le nourrisson selon les études cliniques (LAL-CL03, LAL-CL05 et LAL-CL08)

L'étude LAL-CL03 et son extension LAL-CL05 sont des études de phase 2-3 multicentriques ouvertes, d'escalade de doses, menées sur la forme précoce de la maladie (maladie de Wolman) chez des enfants de moins de 2 ans. Le schéma d'administration correspondait à une dose croissante de 0.35 à 5mg/kg/semaine en intraveineuse sur une durée de 208 semaines. 9 patients y ont été inclus. Le critère principal d'évaluation était le taux de survie à l'âge de 12 mois.

Les critères d'évaluation secondaires étaient la survie à 24 mois, le développement staturo-pondéral, les paramètres hépatiques et l'innocuité du traitement.

A 12 mois, la survie s'élevait à 67 % (6/9 patients). Un des six nourrissons survivants est décédé d'une cause cardiaque à l'âge de 15 mois, les 5 patients restants ont survécu jusqu'à l'âge de 24 mois. Aucun des 21 patients non traités de la cohorte historique n'a survécu au-delà de 8 mois *(Jones et al., 2016)*.

Les améliorations de la survie se sont accompagnées d'amélioration anthropométriques (poids, taille), de la fonction hépatique avec une réduction moyenne pour l'ALAT, l'ASAT et la GGT respectivement de -34,0 U/L, -44,5 U/L et -58.67 U/L de l'inclusion à la semaine 48, de l'hépatosplénomégalie et des symptômes gastro-intestinaux.

Lors de cette étude, les effets sur les concentrations de lipides sériques n'étaient qu'un objectif exploratoire, et on observe une diminution des LDL-c et de triglycérides et une augmentation des HDL-c *(Jones et al., 2017)*.

L'étude LAL-CL08 est une étude de phase 2, ouverte, multicentrique, de dose répétée chez 10 nourrissons évaluant l'innocuité, la tolérabilité du Kanuma®. Les 10 patients éligibles ont commencé le traitement par une dose de 1mg/kg à raison d'une perfusion IV une fois par semaine, une augmentation de la dose à 3mg/kg et jusqu'à 5mg/kg (7,5mg/kg pour le Royaume-Uni uniquement) toutes les semaines était autorisée pour les patients répondant aux critères définis par le protocole.

A la fin de l'étude, 8 patients sur 10 étaient en vie. Un patient est décédé d'un épanchement péricardique, et l'autre d'une septicémie. Leur mort a été évaluée comme non lié au médicament. Les autres patients ont présenté une amélioration des paramètres anthropométriques (poids, taille) et de la fonction hépatique avec une réduction moyenne pour l'ALAT, l'ASAT de -42 U/l et -101 U/l à l'âge de 36 mois. *("Clinical Study In Infants With Rapidly Progressive Lysosomal Acid Lipase Deficiency - Study Results - ClinicalTrials.gov," n.d.)*

❖ Efficacité du traitement dans les formes de LAL-D ayant débuté plus tardivement

L'étude LAL-CL01 et son extension LAL-CL04 sont des études de phase 1/2 multicentriques ouvertes, non randomisées, visant à évaluer l'innocuité, la tolérabilité et la pharmacocinétique de sebelipase alpha chez des participants adultes présentant une dysfonction du foie due à une déficience en lipase acide lysosomale.

Les 9 participants ont été répartis en 3 cohortes posologiques séquentielles (0,35, 1 ou 3 milligrammes / kilogramme [mg/kg]) à raison d'une perfusion IV une fois par semaine pendant 4 semaines. À la fin de LAL-CL01, les patients étaient éligibles pour participer à l'essai de prolongation LAL-CL04. Dans cette étude, les patients ont repris le traitement avec une perfusion une fois par semaine pendant 4 semaines de sebelipase alfa à la même dose que dans l'étude LAL-CL01 (0,35; 1 ou 3 mg/kg) avant de passer aux

perfusions toutes les autres semaines (à 1 ou 3 mg/kg). Les patients du schéma posologique hebdomadaire de 0,35 mg/kg sont passés à 1 mg/kg toutes les deux semaines. Les patients des cohortes de 1 et 3 mg/kg une fois par semaine sont restés sous la même dose, mais l'ont reçue toutes les deux semaines.

Lors de ces études, l'amélioration des concentrations sériques de transaminases s'observe dès les premières semaines de traitement avec une diminution moyenne de l'ALAT et de l'ASAT par rapport aux valeurs initiales de 46 U/L et 21 U/L, respectivement.

Les patients ont également présenté une augmentation transitoire du cholestérol total sérique, des LDL-c et des triglycérides après le début du traitement suivi d'une diminution moyenne par rapport aux valeurs initiales de 44 mg/dL, 29 mg/dL, 50mg/dL, respectivement et une augmentation du HDL-c de 5 mg/dL.

L'augmentation transitoire du cholestérol total, des LDL-c et des triglycérides sériques après l'initiation du traitement pourrait être le résultat d'une augmentation du cholestérol libre et des acides gras dans le cytoplasme, entraînant une augmentation de la sécrétion de VLDL et une régulation négative du récepteur des LDL. *(Balwani et al., 2013)*

L'étude LAL-CL02 est une étude de phase 3 multicentrique, randomisée, à double aveugle versus placebo évaluant l'efficacité et l'innocuité de sebelipase alpha chez les enfants et les adultes âgés de plus de 4 ans atteints d'un déficit en LAL.

Le schéma d'administration est une injection en intraveineuse de 1mg/kg toutes les 2 semaines. Les patients ont été randomisés afin de recevoir soit sebelipase Alfa (36 participants) soit un placebo (30 participants) pendant 20 semaines et ensuite par un traitement ouvert pour tous les patients. Le critère primaire d'évaluation était la normalisation des ALAT, les critères secondaires s'intéressaient à la normalisation des ASAT, l'atteinte hépatique, les triglycérides et le cholestérol ainsi qu'à l'innocuité et les effets indésirables.

En ce qui concerne les résultats, une normalisation des paramètres hépatiques et lipidiques a été observée.

Versus placebo, on observe des résultats statistiquement significatifs avec une diminution moyenne d'alanine aminotransférase de 58U/L par rapport au niveau initial (31% des patients contre 7%) et de - 42U/L pour l'aspartate aminotransférase (42% de

patients contre 3%). La diminution des concentrations sériques d'aminotransférase s'accompagnait de réductions significatives de la teneur en graisse hépatique (- 31,98% contre - 4,21%). Une amélioration des concentrations de lipides et notamment une réduction du LDL-c (-54 mg/dL contre -14 mg/dL), non-HDL-c (-62 mg/dL contre -18 mg/dL) et TG (-39 mg/dL contre -19 mg/dL) et une augmentation de la concentration en HDL-c (+6 mg/dL contre 0,1 mg/dL) ont été observées chez les patients traités.

Lors de l'extension de cette étude sur une période ouverte de 16 semaines, des réductions supplémentaires des concentrations en LDL-c et non-HDL-c ont été observées après 36 semaines de traitement à la sebelipase alfa. Les concentrations d'alanine aminotransférase et de LDL-c qui étaient persistantes chez les patients du groupe placebo au cours de la période à double insu ont nettement diminué avec le passage à la sebelipase alfa *(Burton et al., 2015a)*.

L'étude LAL-CL06 est une étude ouverte, multicentrique évaluant l'efficacité et l'innocuité de sebelipase alpha chez les enfants et les adultes âgés de plus de 8 mois atteints d'un déficit en LAL.

Les 31 patients éligibles ont commencé le traitement par une dose de 1,0 mg/kg à raison d'une perfusion IV toutes les deux semaines, une augmentation de la dose jusqu'à 3,0 mg/kg toutes les deux semaines était autorisée pour les patients répondant aux critères définis par le protocole et une réduction de dose pour la tolérabilité était autorisée à 0,35 mg/kg toutes les deux semaines. Le critère primaire d'évaluation concernait les effets indésirables, les critères secondaires s'intéressaient à la normalisation des lipides sériques, des ALAT, des ASAT.

Une amélioration des paramètres lipidiques a été observée avec une diminution moyenne par rapport aux valeurs initiales de 40 mg/dL pour le cholestérol total, de 39 mg/dL pour le LDL-c et de 47 mg/dL pour les triglycérides et une augmentation du HDL-c de 7 mg/dL.

Ces derniers se sont accompagnés d'amélioration de l'hépatosplénomégalie et de la fonction hépatique avec une réduction moyenne pour l'ALAT, l'ASAT et le GGT respectivement de -25,5 U/L, -24,5 U/L et -15,5 U/L de l'inclusion à la semaine 144.

En résumé, lors des essais cliniques, l'administration de sebelipase alfa par voie intraveineuse a permis d'améliorer la survie au-delà de 1 an chez les nourrissons, le

profil lipidique sérique, l'hépatomégalie et de normaliser les concentrations en transaminases. Un tableau récapitulatif de ces différentes études se trouve en annexe 3.

❖ Effets indésirables :

Chez les 125 patients traités par Kanuma® dans le cadre d'études cliniques, différents effets indésirables ont été répertoriés.

Les effets indésirables les plus graves observés dans les études cliniques étaient des signes et symptômes caractéristiques de l'anaphylaxie. Ces signes et symptômes comprenaient: gêne thoracique, dyspnée, rash généralisé avec démangeaisons, hyperhémie, œdème palpébral léger, rhinorrhée, détresse respiratoire sévère, tachycardie, tachypnée et urticaire.

Dans l'étude LAL-CL01 *(Balwani et al., 2013)*, les neuf patients adultes ont tous terminé sans événement indésirable grave, sans réactions liées à la perfusion, ni interruption du traitement, retrait ou réduction de dose liés au traitement. Aucun anticorps anti-sebelipase alpha n'a été détecté chez aucun sujet.

Sept des neuf patients ont présenté des effets indésirables : des nausées, des maux de tête et de la diarrhée ont été rapportés chez deux patients ou plus.

Lors de l'extension de cette étude (LAL-CL04), le profil d'innocuité reste cohérent avec celui de LAL-CL01, sans signe de préoccupation clinique. Une seule patiente au cours de l'étude LAL-CL04 a présenté une cholécystite aiguë classée parmi les effets indésirables graves et jugée peu probable liée à la sebelipase alfa. Les sept patients sont restés négatifs pour les anticorps anti-sebelipase alpha.

Dans l'étude LAL-CL02 *(Burton et al., 2015a)*, la fréquence et la distribution des effets indésirables étaient similaires dans les deux groupes de l'étude (annexe 4) : 86% des patients du groupe sebelipase et 93% des patients du groupe placebo ont présenté des effets indésirables.

Les plus fréquents ont été des troubles gastro-intestinaux avec nausée, vomissement, diarrhée ; des troubles généraux avec maux de tête, fièvre et asthénie ; des infections des voies respiratoires supérieures et des rhinopharyngites.

Des effets indésirables graves ont été observés chez 3 des 66 patients : 2 patients du groupe sebelipase (5%) et 1 patients (3%) du groupe placebo. Un seul de ces événements a été considéré comme étant lié au médicament : une réaction associée à la perfusion qui était atypique en termes de délai par rapport à la perfusion (8,5 heures après) et en termes de symptômes, la réaction s'est rapidement résorbée après l'administration d'une dose unique de diphenhydramine par voie orale.

Un total de 5 des 36 patients du groupe sebelipase alfa ont eu un ou plusieurs tests positifs d'anticorps anti-médicaments au cours de la période de l'étude de 20 semaines. Les titres étaient généralement bas et non maintenus, et le développement des anticorps anti-médicaments n'a eu aucun effet sur les variables d'innocuité ou d'efficacité.

Dans l'étude LAL-CL03 et son extension d'étude LAL-CL05 *(Jones et al., 2017)*, des événements indésirables d'intensité légère à modérée ont été observés chez tous les patients. Les plus fréquents ont été : des diarrhées, des vomissements (67% chacun), de la fièvre, une rhinopharyngite et une rhinite (56% chacun) et une dermatite (44%).
Des réactions associées à la perfusion ont été observées chez 5/9 (56%) des patients. Les réactions les plus fréquentes ont été : des vomissements, de la fièvre, une urticaire (33% chacun), de la tachycardie et de la pâleur (22% chacun). Les réactions associées à la perfusion ont été gérées avec succès par des modifications de débit de perfusion, un traitement antipyrétique, antihistaminique et anti-inflammatoire.
Des anticorps anti-sebelipase alfa ont été détectés au cours du traitement chez 4 des 7 nourrissons pour lesquels le test a été réalisé. Deux des quatre patients positifs ont été positifs pour les anticorps neutralisants.

Dans l'étude LAL-CL06 *(Burton et al., 2019)*, la sebelipase alfa était généralement bien tolérée. La plupart des événements indésirables étaient d'intensité légère à modérée (douleurs abdominales, vomissement, diarrhée, fièvre). Trois patients (10%) ont présenté une réaction à la perfusion légère (1 patient) ou modérée (2 patients). Un patient a présenté une réaction anaphylactique ; il a subi une désensibilisation et est resté dans l'étude. Un patient a arrêté le traitement en raison d'un événement

indésirable grave (greffe du foie, sans lien avec le traitement). Deux patients (6%) ont été testés positifs pour les anticorps anti-médicament.

Dans l'étude LAL-CL08, 146 événements indésirables graves (EIG), ont été rapportés chez les 10 patients dont 25 ont été jugés comme liés au traitement. Les principaux EIG ont été des réactions à la perfusion sans nécessité d'un arrêt du traitement, des diarrhées, des vomissements, de la fièvre, de l'agitation, de l'irritabilité, de l'urticaire, de la tachycardie ou encore une détresse respiratoire. Un seul patient a présenté une réaction anaphylactique. A ce jour, 6 patients sur 10 ont développé des anticorps anti-médicament tous neutralisants, sans qu'il ait été objectivé d'effet sur l'efficacité de la sebelipase alfa.

Le RCP du Kanuma® mentionne d'autres effets indésirables. Ces derniers sont relatés dans les tableaux ci-dessous, classés par système d'organe et par fréquence. Au sein de chaque groupe de fréquence, les effets indésirables sont présentés par ordre de gravité décroissant.

Système d'organes	Fréquence[1]	Effets indésirables
Affections du système immunitaire	Très fréquent	Œdème palpébral
Affections psychiatriques	Très fréquent	Agitation[2], irritabilité[2]
Affections du système nerveux	Très fréquent	Hypotonie
Affections cardiaques	Très fréquent	Tachycardie[2]
Affections vasculaires	Très fréquent	Hypertension, pâleur[2]
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	Très fréquent	Détresse respiratoire, sibilances, toux, rhinite, congestion nasale, éternuement
Affections gastro-intestinales	Très fréquent	Diarrhée, maladie de reflux gastroœsophagien, efforts de vomissement, vomissement[2]
Affections de la peau et du tissu sous-cutané	Très fréquent	Urticaire[2], rash[2], eczéma[2], prurit, éruption maculopapuleuse
Troubles généraux et anomalies au site d'administration	Très fréquent	Frissons, hyperthermie, fièvre[2], œdème
Investigations	Très fréquent	Augmentation de la température corporelle, saturation en oxygène diminuée, augmentation de la pression artérielle, augmentation de la fréquence cardiaque, augmentation de la fréquence respiratoire

Tableau 2: Effets indésirables rapportés chez les nourrissons (Jones et al., 2017; "Résumé des caractéristiques du produit - KANUMA 2 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - European Medicines Agency," 2015)

[1] Très fréquent = rapporté chez ≥ 1 patient
[2] Rapporté chez ≥ 2 patients

Système d'organes	Fréquence[1]	Effets indésirables
Infections et infestations	Fréquent	Infection du tractus urinaire
Affections du système immunitaire	Fréquent	Réaction anaphylactique, œdème palpébral
Troubles du métabolisme et de la nutrition	Fréquent	Hypercholestérolémie transitoire, hypertriglycéridémie transitoire
Affections psychiatriques	Fréquent	Anxiété[4], insomnie
Affections du système nerveux	Fréquent	Sensation vertigineuse
Affections cardiaques	Fréquent	Tachycardie
Affections vasculaires	Fréquent	Hyperhémie[2], hypotension
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	Fréquent	Œdème laryngé[2], dyspnée[2, 3, 4]
Affections gastro-intestinales	Fréquent	Diarrhée[2, 3], douleur abdominale[2, 3], distension abdominale, nausées[2, 3]
Affections de la peau et du tissu sous-cutané	Fréquent	Urticaire, rash[2, 4] (incluant éruption papuleuse et rash prurigineux), prurit[2], eczéma[2]
Affections des organes de reproduction et du sein	Fréquent	Ménorragie
Troubles généraux et anomalies au site d'administration	Fréquent	Frissons, gêne thoracique[2,4], œdème, fatigue, induration au point de perfusion, fièvre
Investigations	Fréquent	Augmentation de la température corporelle[3, 4]
Lésions, intoxications et complications liées aux procédures	Fréquent	Réaction liée à la perfusion[4]

Tableau 3: Effets indésirables rapportés chez les enfants et adultes (Burton et al., 2015a; "Résumé des caractéristiques du produit - KANUMA 2 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - European Medicines Agency," 2015)

[1] Très fréquent = rapporté chez ≥ 1 patient
[2] Rapporté chez ≥ 2 patients
[3] Rapporté à la même fréquence chez les patients recevant KANUMA® ou le placebo ou plus fréquemment chez les patients recevant le placebo pendant la période en double insu de l'étude LAL-CL02 (Burton et al., 2015a)
[4] Rapporté comme faisant partie d'un effet indésirable chez un seul patient recevant KANUMA® dans l'étude LAL-CL02 (Burton et al., 2015a)

- Contre-indication :

Une hypersensibilité menaçant le pronostic vital (réaction anaphylactique) au principe actif, aux œufs ou à l'un des excipients contre-indique le Kanuma®

- Coût du traitement :

Le prix d'un flacon de 20 mg est de 6 051,26 € TTC.

Par exemple, pour un homme de 70 kg, le traitement nécessite l'administration de 3,5 flacons par injection, tous les 15 jours. Le coût de revient annuel est d'environ 550 664,66€ TTC.

3.4.2. Transplantation de cellules souches hématopoïétiques (HSCT)

La HSCT permet elle aussi l'apport d'une enzyme active dans un organisme qui en est dépourvu. Elle est basée sur le fait que la lipase acide exogène pénètre dans les lysosomes de fibroblastes anormaux. Cette correction croisée a rendu ces fibroblastes normaux *(Kyriakides et al., 1972)*. Une étude supplémentaire a montré qu'après une greffe de moelle osseuse sur un modèle murin malade, une correction de l'activité enzymatique de la lipase acide sérique a été obtenue *(Jyonouchi et al., 1982)*.

La HSCT consiste à administrer la moelle histocompatible d'un donneur à un patient préalablement soumis à une myéloablation. Les cellules injectées s'implantent dans la moelle osseuse et deviennent source de production de la protéine manquante qui est ensuite délivrée aux différents tissus et organes par le biais du recaptage spécifique aux enzymes lysosomales. Une fois incorporée dans les lysosomes de la cellule, la lipase acide catalyse l'hydrolyse des triglycérides et des esters de cholestérol de LDL intralysosomal. Ces produits de dégradation des LDL, à leur tour, répriment l'expression des récepteurs aux LDL à la surface cellulaire (réduisant l'afflux de LDL) et inhibent l'activité de l'HMG-CoA réductase (réduisant la synthèse de novo du cholestérol). *(Stein et al., 2007)*

La HSCT a été pendant des années le seul traitement potentiel disponible. Bien qu'il y ait quelques cas rapportés de maladie de Wolman traitée avec succès par HSCT, son

utilisation est controversée en raison du risque élevé de la morbi-mortalité *(Pastores and Hughes, 2020)*.

Dans les cas signalés impliquant un total de 8 patients présentant une carence en LAL à début précoce qui ont reçu une HSCT, 3 patients ont survécu et ont obtenu une normalisation du taux en LAL, une amélioration des paramètres lipidiques, une résolution des symptômes, une régression de l'hépatosplénomégalie et une amélioration histologique du foie *(Krivit et al., 2000; Stein et al., 2007; Tolar et al., 2009)* et quatre patients sont décédés dans les 8 mois suivant la transplantation et un patient est décédé environ 6 ans après avoir reçu la HSCT. *(Gramatges et al., 2009; Tolar et al., 2009; Yanir et al., 2013)*

La plupart de ces décès étaient dus soit à la progression de la maladie, soit à des complications liées à la HSCT telles qu'une septicémie, une maladie du greffon contre l'hôte, une insuffisance hépatique, un syndrome d'obstruction sinusoïdale (SOS) et/ou une défaillance multiviscérale. Ces obstacles ont amené les chercheurs à trouver le traitement enzymatique substitutif *(Gramatges et al., 2009)*.

Après cette revue de la littérature couvrant tous les aspects cliniques, physiopathologiques et thérapeutiques de la maladie de Wolman et CESD, nous rapportons les cas de 19 patients atteints d'un déficit en LAL et suivis dans des centres de référence. Nous avons recueilli rétrospectivement les données concernant le diagnostic, l'étude des variants génétiques et les signes cliniques des patients diagnostiqués entre 2015 et 2019.

II. Patients et méthodes

1. Patients dépistés

Cette cohorte est basée sur 4174 échantillons de taches de sang séché (DBS) prélevés sur des individus suspectés d'avoir un déficit en LAL après un dépistage clinique et soumis au laboratoire du CHU de Rouen pour l'évaluation de l'activité de la LAL entre 2015 et 2019.

Les patients sont éligibles au dépistage du déficit en LAL uniquement si certains critères cliniques et/ou biologiques sont présents. L'ensemble de ces critères ont été hiérarchisés dans un tableau en annexe 5.

La cohorte comprenait 1680 femmes âgées de 42,78 ans (± 22,56 ans) et 2494 hommes âgés de 44,88 ans (± 20,49 ans). Des consentements éclairés de tous les sujets impliqués dans l'étude ont été obtenus. Dix-sept consentements éclairés écrits ont été signés pour l'analyse moléculaire.

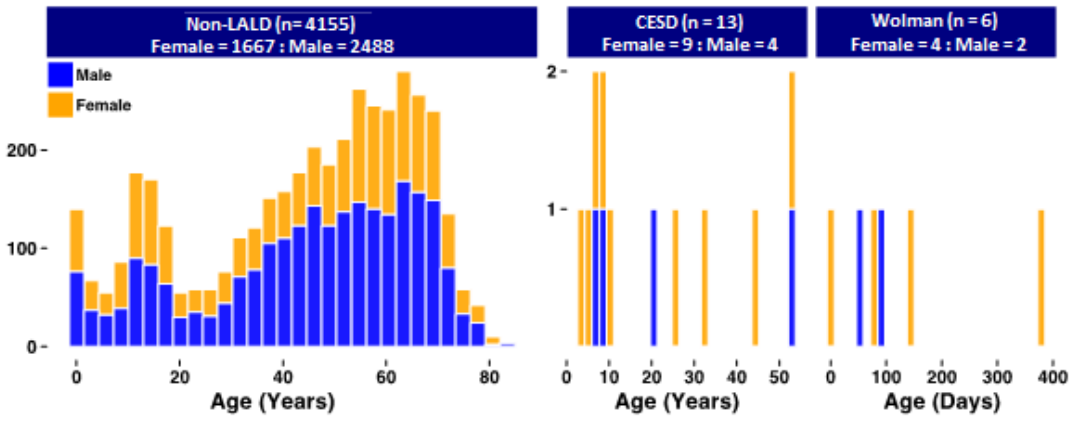


Figure 11: Description de la cohorte

2. Dosage de l'activité enzymatique

Toutes les procédures de laboratoire décrites ont été effectuées au service de biochimie métabolique du CHU de Rouen.

Le déficit en LAL peut être confirmé biochimiquement en mesurant l'activité enzymatique de la LAL dans le sang veineux EDTA sur des buvards de sang séché (DBS) selon la méthode de Halmilton et al. *(Hamilton et al., 2012)*. L'activité LAL est mesurée en utilisant le substrat fluorimétrique 4-méthylumbelliféryle palmitate et la cardiolipine activatrice de LAL. D'autres lipases dans le sang total peuvent interférer avec la mesure de LAL dans les DBS, on utilise donc un inhibiteur hautement spécifique de la LAL : Lalistat 2 (carbamates de thiadiazole).

L'activité LAL est déterminée en comparant l'activité lipase totale à l'activité lipasique en présence de Lalistat 2, la différence entre les deux résultats peut être attribuée à la LAL.

2.1. Produits chimiques et réactifs

La cardiolipine, la 4-méthylumbelliférone (4-MU), le diméthylsulfoxyde (DMSO) et le triton X-100 ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich. L'acétate de sodium provenait de VWR chemicals. Le 4-méthylumbelliférone palmitate (4MU-palmitate) provenait d'Apollo Scientific. Le méthanol et l'acide chlorhydrique provenaient de Carlo Erba reagents. L'eau distillée provenait de Baxter.

2.2. Procédure d'extraction et de dosage des échantillons

Deux spots de 3 mm par patient ont été extraits avec 200µl d'eau distillée en mélangeant pendant 1 heure à température ambiante. Le test a été réalisé en utilisant des plaques à 96 puits. Les réactions sans inhibiteurs et avec inhibiteurs ont chacune été réalisées en double nécessitant 4 puits par échantillon de patient.

40µl d'échantillon ont été ajoutés à chaque puits selon le plan de plaque et 10µl de Lalistat2 à 30µM ont été ajoutés dans chaque puits pour la réaction avec inhibiteur ou 10µl d'eau distillée pour la réaction sans inhibiteur. Les plaques ont été scellées avec un film d'aluminium adhésif et pré-incubées pendant 10 minutes à 37°C sous agitation.

Puis 150µl de tampon substrat contenant du 4MU-palmitate (0,35 mM) et de la cardiolipine (0,032%) dans un tampon acétate 0,15 M avec 1% de Triton X-100, pH 4,0 ont été ajoutés à tous les puits et les plaques ont été scellées de nouveau. Les plaques ont été agitées pendant 2 minutes supplémentaires et incubées à 37 °C sous agitation pendant 3 heures. Après l'incubation, dix standards de 4-MU dilués en série dans de l'eau (plage: 0,02 à 11,34 µmol) ont été ajoutés à la plaque. Ensuite, 100 µL de tampon acétate 0,15 M avec 1% de Triton X-100 ont été ajoutés à tous les puits et la fluorescence a été mesurée en utilisant un fluorimètre Hitachi F-7000 a une longueur d'onde d'excitation de 320nm et d'émission de 446nm. Les plaques sont lues deux fois avec un intervalle de 5 minutes entre les lectures. La moyenne des deux fluorescences a été utilisée pour déterminer les résultats. L'activité LAL a été déterminée en soustrayant l'activité dans la réaction avec inhibiteur de la réaction sans inhibiteur (lipase totale). La valeur de référence de l'activité LAL est comprise entre 0,32 et 2,08 nmol/spot/h avec un seuil fixé à 0,12 nmol/spot/h.

En parallèle un dosage d'une enzyme contrôle, alpha galactosidase, avec les mêmes échantillons est réalisé afin de vérifier la conformité du buvard.

3. Analyse moléculaire du gène *LIPA* en Next Generation Sequencing (NGS)

L'analyse du gène *LIPA* du patient et l'étude de la ségrégation allélique permettent de confirmer le diagnostic. Le ou les variants responsables de la maladie vont être mis en évidence par un séquençage haut débit (NGS) utilisant la technologie Illumina® avec le séquenceur Miseq ou Nextseq. Lorsqu'un cas est détecté, une étude du gène *LIPA* des parents est nécessaire afin de vérifier la ségrégation allélique. Cette étude permettra de dépister les porteurs hétérozygotes des variants et d'apporter des informations sur le caractère pathogène du ou des variants génétiques.

Le laboratoire de biochimie métabolique du CHU de Rouen a mis en place en 2013 un séquençage ciblé permettant d'analyser un panel de gènes, appelé panel LysoGene, afin d'analyser 51 gènes codant pour des protéines rentrant en jeu dans le fonctionnement du lysosome (annexe 7) ; dont le gène LAL impliqué dans la maladie de Wolman et la maladie de stockage des esters de cholestérol (CESD).

Le séquençage haut débit se fait en 3 étapes : préparation des librairies, PCR et séquençage.

La préparation des librairies correspond à l'ensemble des fragments d'ADN à séquencer auquel on ajoute trois éléments :

- Des amorces (Rd1 SP et Rd2 SP) permettant d'initier la réplication de l'ADN
- Des index de chaque côté du fragment permettant d'identifier l'ADN de chaque patient lors de l'analyse
- Des adapteurs en 3' et 5' (P5 et P7) permettant de fixer les fragments à la Flow cell (FC).



Figure 12: Fragment d'ADN avant séquençage (Illumina.com, 2017)

Cette préparation est suivie d'un bridge PCR c'est-à-dire une amplification en pont des fragments d'ADN à séquencer sur une surface solide (Flow cell).

La FC est une plaque de verre à la surface de laquelle sont fixés de manière covalente des oligonucléotides complémentaires de la séquence des adaptateurs présents aux extrémités de chaque fragment d'ADN de la librairie. Ces oligonucléotides serviront d'amorces lors de la PCR.

Déposé sur la FC, chaque fragment d'ADN dénaturé s'hybride par l'une de ses extrémités avec une amorce de la FC, puis un nouveau brin est synthétisé par une polymérase à partir de cette amorce. Le brin d'origine est éliminé par dénaturation. L'extrémité flottante du brin synthétisé se fixe ensuite sur une amorce adjacente et forme un pont d'ADN simple brin. La polymérase synthétise alors le brin complémentaire pour former un pont d'ADN double brin. Ce dernier est dénaturé pour former des fragments d'ADN simple brin qui servent de substrat pour un nouveau cycle d'amplification par pont (bridge PCR) et ainsi de suite jusqu'à formation d'un groupe d'ADN clonal à la surface de la FC, appelé cluster. Les clusters monoclonaux permettront une amplification du signal lors de l'étape de séquençage.

La technologie Illumina® fait appel à une technique de séquençage par synthèse utilisant des nucléotides (A, C, G et T) modifiés par l'ajout de terminateurs réversibles marqués par des fluorochromes différents. Ce séquençage est un procédé cyclique. Lors du

premier cycle, les 4 types de nucléotides sont injectés sur la FC. Au niveau de chaque cluster, un nucléotide modifié complémentaire du fragment d'ADN est incorporé, puis une mesure des signaux fluorescents émis par les nucléotides incorporés est effectuée, permettant de déterminer l'identité des nucléotides incorporés; une étape de clivage du terminateur réversible est nécessaire avant de passer au cycle suivant, car il empêche l'incorporation d'un nucléotide en aval.

Les cycles sont ensuite répétés, et une image est générée pour chacun d'entre eux.

À l'issue du séquençage, la série d'images produite permettra de déterminer une séquence de nucléotides incorporés au niveau de chaque cluster: cette séquence est complémentaire du fragment d'ADN immobilisé au niveau de chaque cluster.

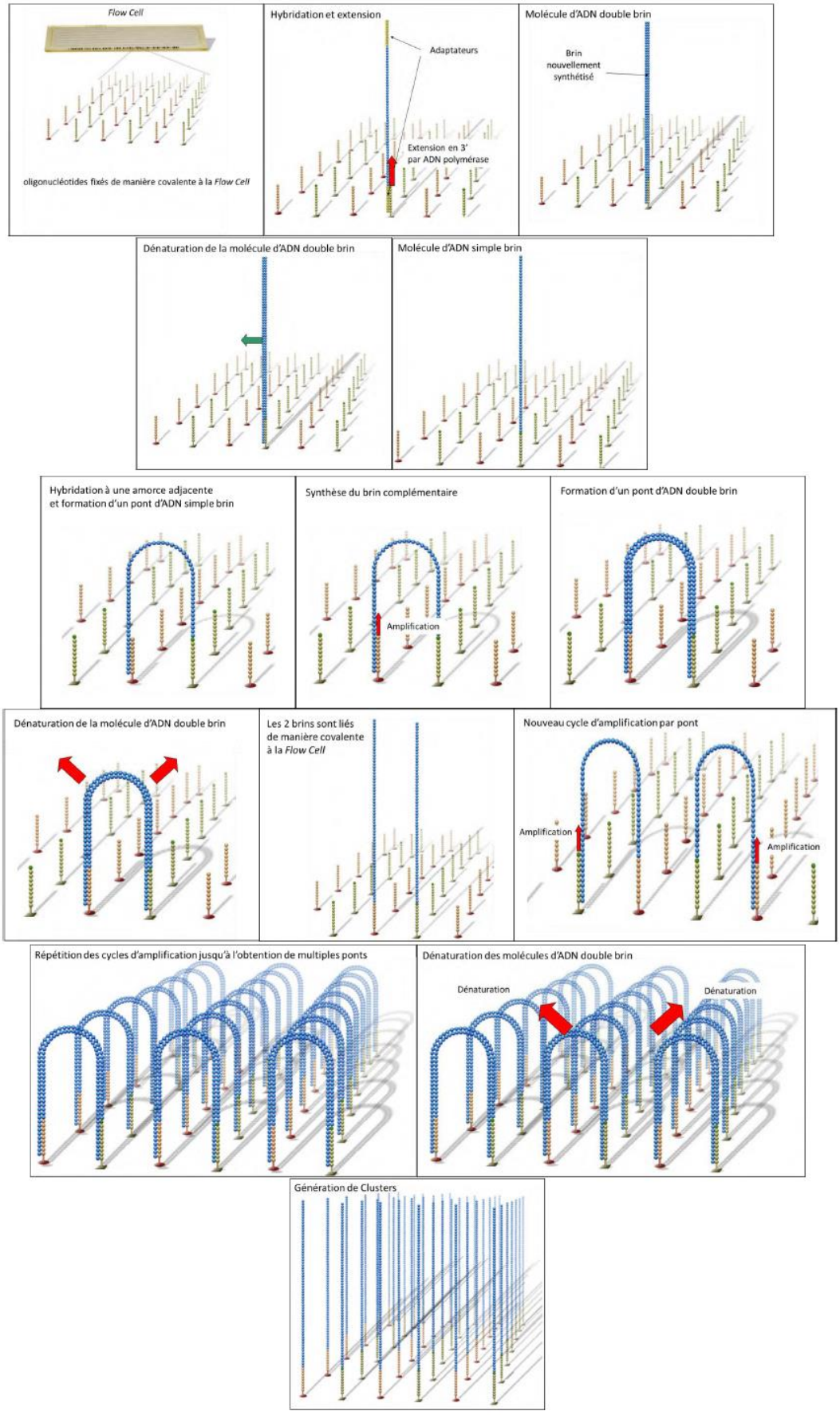


Figure 13: Amplification par pont (bridge PCR) de la technologie Illumina® (Illumina.com, 2017)

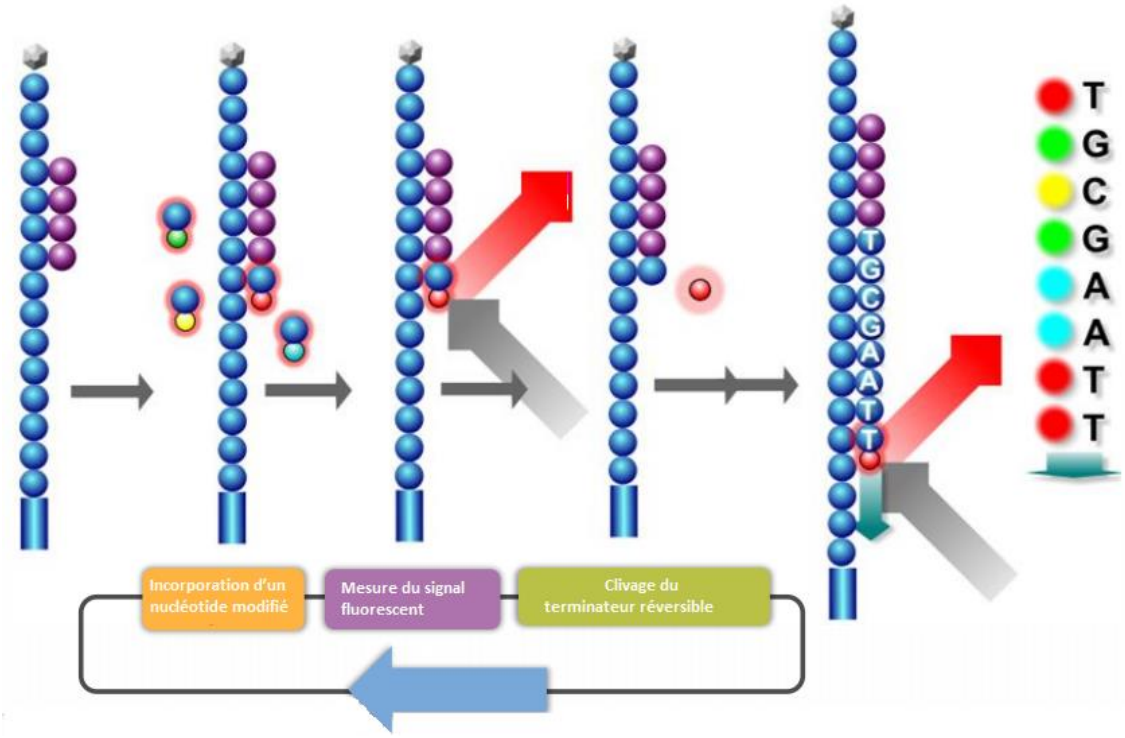


Figure 14: Principe du séquençage de l'ADN avec la technologie Illumina® (Illumina.com, 2017)

III. Résultats

Nous avons étudié 4174 patients éligibles au dépistage du déficit en LAL selon les critères en annexe 5. Les informations cliniques et biologiques ont été fournies par le médecin des patients et dans tous les cas, l'activité enzymatique de la LAL a été dosée.
La moyenne des activités de la LAL était de 0,98 ± 0,59 nmol/spot/h pour les femmes et de 0,89 ± 0,54 nmol/spot/h pour les hommes. Cent cinquante-sept échantillons provenaient d'enfants de moins de 2 ans (3,8%) dont 73 femmes et 84 hommes. Quatre mille dix-sept (96,2%) étaient âgés de plus de 2 ans et comprenaient 1607 femmes et 2410 hommes.

Un déficit en LAL a été trouvé pour 19 patients. Les données sur les variants du gène *LIPA* étaient disponibles chez 17 d'entre eux. Six patients ont été diagnostiqués comme étant atteints de la maladie de Wolman, tandis que treize patients ont été diagnostiqués comme atteints de CESD. Les résultats cliniques, biochimiques et moléculaires de tous les patients sont présentés ci-dessous et résumés dans le tableau en annexe 6.

- **Patiente 1** :

Patiente de 4 mois, de parents consanguins, admise pour une fièvre prolongée avec une distension de l'abdomen.
L'analyse en laboratoire a montré une anémie, une élévation de l'ALAT et une hypertriglycéridémie.

L'échographie abdominale et le scanner ont confirmé une hépatosplénomégalie et une calcification massive des glandes surrénales. La biopsie hépatique a révélé une stéatose, une fibrose et une cirrhose hépatique.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,00 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* a révélé que la patiente était homozygote pour le variant : c.153 C> A (p. Tyr51*) au niveau de l'exon 3 *(Tinsa et al., 2019)*, qui a interrompu le cadre de lecture par un codon STOP prématuré et a confirmé le diagnostic de la maladie de Wolman. Les parents étaient hétérozygotes pour ce variant.

La patiente a développé une insuffisance hépatique sévère et est décédée 1 mois après l'admission.

❖ **Patient 2** :

Patient de 20 ans, présentant une hépatomégalie, une stéatose hépatique et une hypercholestérolémie.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,00 nmol/spot/h. Le séquençage du gène *LIPA* a révélé deux variants précédemment rapportés *(Klima et al., 1993; Muntoni et al., 1995; Ruiz-Andrés et al., 2017; Sadhukhan et al., 2014; Zschenker et al., 2001)*, le variant bien connu au niveau du site d'épissage de l'exon 8, c.894G>A (p.Gln298=), et une petite délétion dans l'exon 4 c.398del (p.Ser133*) qui a interrompu le cadre de lecture par un codon STOP prématuré et a confirmé le diagnostic de CESD.

❖ **Patient 3** :

Patient de 53 ans présentant une hépatomégalie, une stéatose hépatique avec hypercholestérolémie et une élévation des ALAT.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,00 nmol/spot/h. Le diagnostic de CESD est confirmé avec le séquençage du gène *LIPA* qui a révélé deux variants déjà rapportés dans la littérature *(Burton et al., 2015b; Klima et al., 1993; Lohse et al., 2000; Muntoni et al., 1995; Redonnet-Vernhet et al., 1997)*, le variant c.894G>A (p.Gln298=), et une substitution dans l'exon 3 c.193C>T (p.Arg65*) interrompant le cadre de lecture par un codon STOP prématuré.

❖ **Patiente 4** :

Patiente de 6 jours, issue d'une famille consanguine, connue pour des antécédents de maladie de Wolman chez son frère aîné (patient 16) et présentant une distension de l'abdomen, hépatomégalie, vomissement et retard de croissance.

L'analyse en laboratoire a montré une élévation de l'ALAT et une hypertriglycéridémie.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,00 nmol/spot/h. L'analyse de la séquence génétique du gène *LIPA* a révélé un variant jamais décrit dans la littérature : la patiente était homozygote pour le même variant que son frère au niveau du site de l'épissage de l'intron 4 : c.429-1G>C. Ce variant peut induire un saut d'exon et il est retrouvé chez les patients présentant une maladie de Wolman. Cette patiente est sous enzymothérapie.

❖ **Patiente 5** :

Patiente de 45 ans, présentant une hépatomégalie, une stéatose hépatique, une hypercholestérolémie, une élévation des ALAT et une activité de la LAL à 0,00 nmol/spot/h. L'analyse de la séquence génétique du gène *LIPA* a révélé le variant c.894G>A (p.Gln298=) et un nouveau variant faux-sens dans l'exon 4 : c.340G>T (p.Asp114Tyr) confirmant le diagnostic de CESD.

❖ **Patiente 6** :

Patiente de 9 ans, présentant une hépatosplénomégalie, une fibrose hépatique et une anomalie du système cardiaque. Les examens biologiques révèlent une hypercholestérolémie, une hypertriglycéridémie et une élévation des ALAT.

L'activité enzymatique est de 0,00 nmol/spot/h. Le séquençage du gène *LIPA* confirme la CESD en révélant le variant c.894G>A (p.Gln298=) et un nouveau variant délétion-insertion dans l'exon 4 : c.232_243delins (p.Pro76Alafs*5) qui correspond à une délétion des acides aminés (AA) de 232 à 243 et d'une insertion de 33 AA ce qui entraine un décalage de lecture. La proline (Pro) est le premier AA changé en alanine (Ala) et un codon stop se trouve en 5ème position interrompant le cadre de lecture prématurément.

❖ **Patiente 7** :

Patiente de 11 ans présentant une hépatosplénomégalie sans stéatose hépatique et une diarrhée. Une élévation des ALAT est retrouvée ainsi qu'une hypercholestérolémie. Elle ne présente pas de retard de croissance.

L'activité de la LAL est de 0,00 nmol/spot/h. Le diagnostic de CESD est confirmé avec le séquençage du gène *LIPA* qui a révélé le variant c.894G>A (p.Gln298=) et un nouveau variant au niveau du site de l'épissage de l'exon 5 : c.538+1G>A pouvant potentiellement causer un saut d'exon.

❖ **Patiente 8** :

Patiente de 32 ans, présentant une hépatomégalie sans stéatose hépatique. Une élévation des ALAT est retrouvée ainsi qu'une hypercholestérolémie.

L'activité de la LAL est de 0,00 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* n'est pas disponible.

❖ **Patiente 9** :

Patiente de 26 ans présentant une hépatomégalie, une stéatose et une fibrose hépatique, une élévation des ALAT, une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie. Elle ne présente pas de cirrhose, ni de retard de croissance.

L'activité de la LAL est de 0,00 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* a révélé les mêmes variants que le patient 2 : le variant c.894G>A (p.Gln298=) et le variant délétion c.398del (p.Ser133*) confirmant le diagnostic de CESD.

❖ **Patiente 10** :

Patiente de 6 ans présentant une hépatomégalie, une stéatose hépatique, une élévation des ALAT, une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie. Elle ne présente pas de retard de croissance.

L'activité de la LAL est de 0,00 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* confirme la CESD en révélant le variant c.894G>A (p.Gln298=) et un nouveau variant non-sens dans l'exon 6 : c.647T>G (p.Leu216*) interrompant le cadre de lecture par un codon STOP prématuré.

❖ **Patient 11** :

Patient de 6 ans, présentant une distension de l'abdomen avec hépatomégalie sans stéatose ni fibrose hépatique. Les examens biologiques montrent une hypercholestérolémie et une élévation des ALAT.

L'activité enzymatique de la LAL est de 0,01 nmol/spot/h. Le séquençage du gène *LIPA* confirme la CESD en révélant le variant c.894G>A (p.Gln298=) et un nouveau variant faux-sens dans l'exon 6 : c.601G>C (p.Gly201Arg).

❖ **Patiente 12** :

Patiente d'un an, issue d'une famille consanguine, sans antécédents familiaux de maladies héréditaires ou de décès prématurés.

À son admission, elle avait des paramètres anthropométriques normaux. Cependant, elle était plaintive et asthénique, avec une fièvre élevée. Une hypertrophie du foie et de la rate sont présentes lors de l'examen abdominal. L'examen radiologique a révélé une

hépatosplénomégalie marquée et des calcifications des glandes. La biopsie hépatique a révélé une stéatose et une fibrose hépatique.

Les examens biologiques ont révélé une anémie, une élévation des ALAT, une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie.

L'activité enzymatique de la LAL était significativement réduite (0,02 nmol/spot/h). L'analyse de la séquence génétique du gène *LIPA* a révélé que la patiente était homozygote pour le variant *(Chabchoub et al., 2020)* : c.966G>C qui correspond à une substitution de G en C au niveau du dernier nucléotide de l'exon 9 supprimant le site donneur d'épissage (p.Gln322His). Les parents étaient hétérozygotes pour ce variant. Après ces analyses, le diagnostic de maladie de Wolman est posé.

Cette patiente n'a pas reçu de sebelipase alfa, car ce traitement n'est pas disponible en Tunisie. Elle était en attente d'une greffe de moelle osseuse, mais est décédée.

- **Patiente 13** :

Patiente de 4 ans, présentant une distension de l'abdomen, une hépatomégalie et une fibrose hépatique. Elle ne présente pas de retard de croissance ni de cirrhose. Les examens biologiques montrent une anémie, une élévation des ALAT, une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie.

L'activité enzymatique de la LAL est de 0,02 nmol/spot/h. Le séquençage du gène *LIPA* confirme la CESD en révélant le variant c.894G>A (p.Gln298=) et un nouveau variant faux-sens dans l'intron 5 : c.538G>A (p.Gly180Ser).

- **Patiente 14** :

Patiente de 5 ans présentant une anémie accompagnée d'une distension de l'abdomen due à une hépatomégalie, d'un retard de croissance, d'une diarrhée et d'une anomalie du système cardiovasculaire.

L'activité enzymatique de la LAL est de 0,03 nmol/spot/h. Les résultats du séquençage du gène *LIPA* ne sont pas disponibles.

❖ **Patient 15** :

Patient de 1 mois, de parents consanguins, admis pour une anémie accompagnée d'une hépatosplénomégalie, d'un retard de croissance et d'une diarrhée.
Lors d'examens approfondis, on retrouve une calcification des glandes surrénales et une anomalie du système cardiovasculaire.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,03 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* a révélé un variant non-sens homozygote déjà rapporté dans la littérature (Aslanidis et al., 1996; Burton et al., 2015b; Fasano et al., 2012) au niveau de l'exon 7 : c.796G>T (p.Gly266*), qui a interrompu le cadre de lecture par un codon STOP prématuré et a confirmé le diagnostic de la maladie de Wolman. Le patient est décédé.

❖ **Patient 16** :

Patient de 3 mois, de parents consanguins, admis pour une hépatosplénomégalie avec retard de croissance. Il est le grand frère de la patiente 4.

Les examens biologiques montrent une anémie, une élévation des ALAT et une hypertriglycéridémie. L'examen radiologique a révélé des calcifications des glandes surrénaliennes.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,05 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* a révélé le même variant homozygote que sa sœur (patient 4) : le variant c.429-1G>C confirmant le diagnostic de maladie de Wolman. Le patient est décédé.

❖ **Patient 17** :

Patient de 9 ans, de parents consanguins, présentant une hépatomégalie avec stéatose hépatique. Elle ne présente pas de fibrose hépatique, de cirrhose, ou de retard de croissance.

Les examens biologiques montrent une élévation des ALAT et une hypercholestérolémie.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,01 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* a révélé qu'elle était homozygote pour le variant bien connu au niveau du site d'épissage de l'exon 8, c.894G>A (p.Gln298=) confirmant la CESD.

- **Patiente 18** :

Patiente de 53 ans présentant une hépatomégalie avec stéatose hépatique sans fibrose ni cirrhose.

Les examens biologiques montrent une élévation des ALAT, une hypercholestérolémie et une hypertriglycéridémie.

L'activité enzymatique de la LAL était de 0,00 nmol/spot/h. L'analyse du gène *LIPA* a révélé les mêmes variants que les patients 2 et 9 : le variant c.894G>A (p.Gln298=) et le variant délétion c.398del (p.Ser133*) confirmant le diagnostic de CESD.

- **Patiente 19** :

Patiente de 2 mois, de parents consanguins, présentant une distension de l'abdomen, des vomissements et un retard de croissance.
L'analyse en laboratoire a montré une anémie, une élévation de l'ALAT et une hypertriglycéridémie.

L'échographie a confirmé une hépatosplénomégalie et une calcification des glandes surrénales. La biopsie hépatique n'a pas révélé de stéatose, ni fibrose, ni cirrhose hépatique.

L'activité enzymatique de la LAL est de 0,00 nmol/spot/h. L'analyse de la séquence génétique du gène *LIPA* a révélé un variant déjà décrit dans la littérature *(Valles-Ayoub et al., 2011)* au niveau de l'exon 4 : la patiente était homozygote pour le variant faux-sens : c.260G>T (p.Gln87Val). Les parents étaient hétérozygotes pour ce variant. Après ces analyses, le diagnostic de maladie de Wolman est posé.

Entre 2015 et 2019, 19 patients ont été détectés *(figure 11 p.50)* avec une activité inférieure à 0,05 nmol/spot/h. Six patients (4 femmes et 2 hommes) ont reçu un diagnostic de maladie de Wolman sur 157 enfants de moins de 2 ans (3,82%) avec un âge moyen au diagnostic de 0,26 ± 0,34 ans. Concernant la CESD, 13 patients (9 femmes et 4 hommes) ont été identifiés sur 4017 personnes de plus de 2 ans (0,32%) avec un âge moyen au diagnostic de 22,42 ± 18,23 ans (annexe 6).

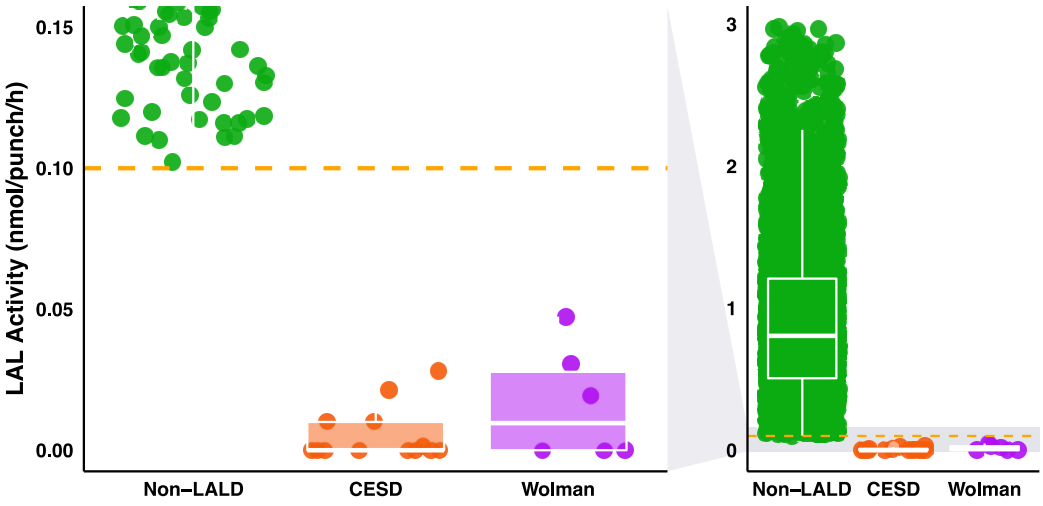


Figure 15: Distribution de l'activité enzymatique LAL entre les patients non-LALD, CESD et Wolman. Le panneau de gauche est un zoom sur les faibles valeurs d'activité

Cliniquement, l'hépatomégalie était l'anomalie la plus fréquente (n=19 ; 100%) accompagnée parfois d'une splénomégalie (n=7 ; 36,8%), d'une stéatose hépatique (n=9 ; 47,4%) et/ou d'une fibrose hépatique (n=5 ; 26,3%). Une cirrhose était présente chez un patient et une calcification des surrénales a été observée chez 5 patients (26,3%).

Des signes extrahépatiques ont été rapportés comme des diarrhées (n=3 ; 15,8%), des vomissements (n=2 ; 10,5%), une anémie (n=7 ; 36,8%), un retard de croissance (n=5 ; 26,3%) et des anomalies du système cardiaque (n=3 ; 15,8%).

Concernant les anomalies biochimiques, une élévation de l'ALAT était fréquemment rapportée (n=16 ; 84,2%), ainsi qu'une hypercholestérolémie (n=13/17 rapporté ; 76,5%) et une hypertriglycéridémie (n=10/14 rapporté ; 71,4%).

Pour les patients CESD, les analyses de laboratoire ont montré une altération du profil lipidique (annexe 6) : cholestérol à 2,72 ± 0,47 g/L (N<2,3), cholestérol HDL à 0,35 ± 0,09 g/L (N>0,45), cholestérol LDL à 2,31 ± 0,5 g/L (N<1,3), triglycérides à 1,92 ± 1,26 g/L (N<1,33).

Pour les patients Wolman, les analyses de laboratoire ont montré une altération du profil lipidique : cholestérol à 1,53 ± 0,87 g/L, cholestérol HDL à 0,15 ± 0,08 g/L, cholestérol LDL à 1,3 ± 0,92 g/L, triglycérides = 3,26 ± 1,42 g/L.

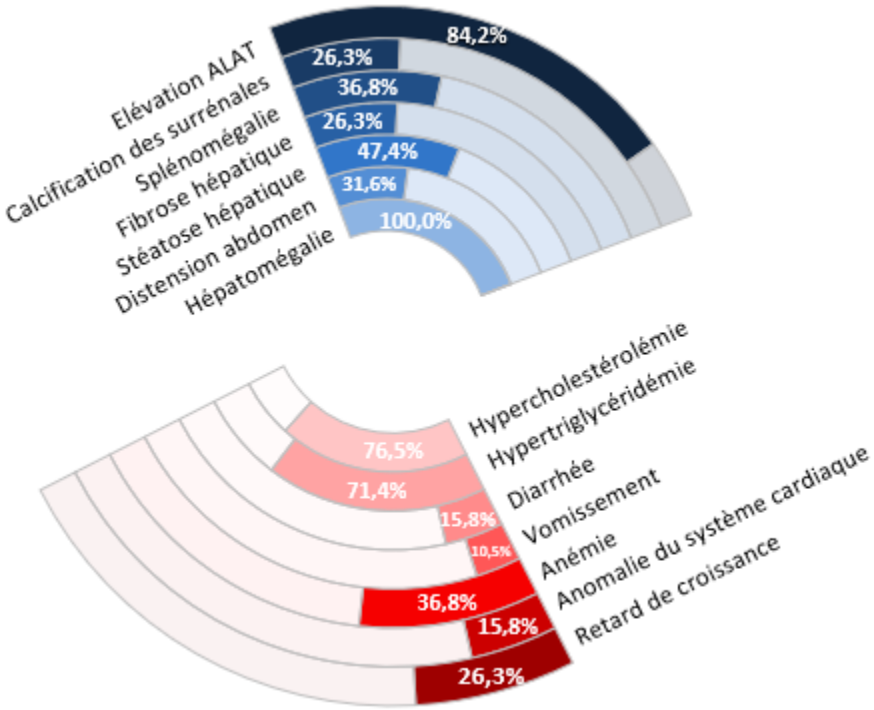


Figure 16: Symptômes présents au moment du diagnostic

IV. Discussion

L'objectif de cette étude était de faire un dépistage à grande échelle de la carence en LAL dans une population à risque. Ce screening basé sur la biochimie et sur la génétique a permis de diagnostiquer 19 patients parmi les 4174 patients identifiés.

Les six patients atteints de maladie de Wolman ont été diagnostiqués entre 6 jours et 1 an de vie, avec un âge moyen au diagnostic de 0,26 ± 0,34 ans. Tous les patients étaient consanguins et la majorité d'entre eux présentaient une anémie (n=5), une hépatosplénomégalie, une élévation des ALAT (n=5), une hypertriglycéridémie (n=5) et des calcifications des glandes surrénales (n=5). Certains patients ont présenté un retard de croissance (n=4), des vomissements (n=2), des diarrhées (n=1), une hypercholestérolémie (n=1) ou encore une anomalie du système cardiovasculaire (n=1). Deux patients ont présenté une stéatose et une fibrose hépatique dont un au stade cirrhose.

Au contraire, les treize patients présentant la forme CESD ont été diagnostiqués entre 4 et 53,4 ans de vie, soit 22,42 ± 18,23 ans l'âge moyen au moment du diagnostic. Presque tous ont montré une hépatomégalie (n=13), une élévation des ALAT (n=11) et une hypercholestérolémie (n=12) comme principaux traits d'affection et certains d'entre eux ont montré une splénomégalie (n=2), une hypertriglycéridémie (n=5), une fibrose (n=3) ou une stéatose hépatique (n=7) ou des anomalies du système cardiovasculaire (n=2) (Annexe 6).

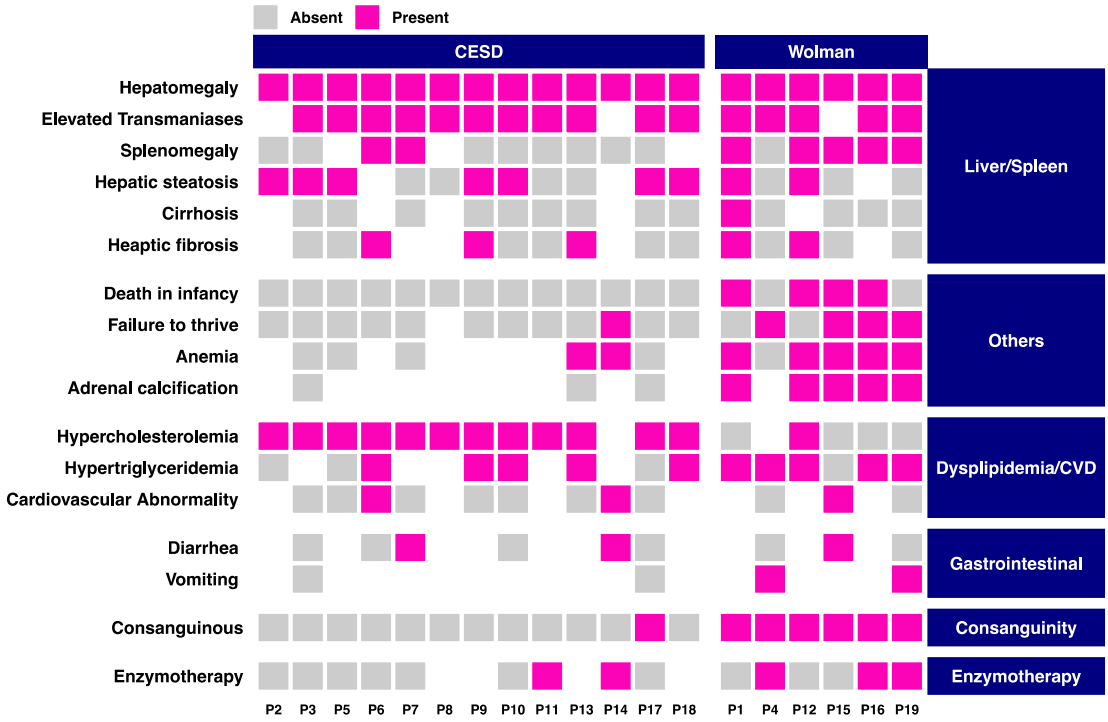


Figure 17: Aperçu du phénotype clinique des patients CESD et Wolman

Le diagnostic au CHU de Rouen repose actuellement sur certains critères cliniques et/ou biologiques (Annexe 5), puis sur la mesure de l'activité enzymatique de la LAL sur DBS en utilisant Lalistat 2 selon la méthode de Halmilton et al., suivi d'un contrôle avec un nouveau prélèvement du patient et de l'analyse moléculaire du gène *LIPA* en NGS le cas échéant.

L'activité enzymatique de la LAL était inférieure à 0,05 nmol/spot/h (seuil à 0,12) pour les 19 patients et l'analyse génétique du gène *LIPA* de 17 d'entre eux nous a permis d'identifier quatorze variants différents dont 6 non-sens, 4 faux-sens, 4 variants au niveau d'un site d'épissage. Sept variants n'étaient pas signalés auparavant : deux variants non-sens [c.232_243delins (p.Pro76Alafs*5) ; c.647T>G (p.Leu216*)], trois faux-sens [c.340G>T (p.Asp114Tyr) ; c.601G>C (p.Gly201Arg) ; c.538G>A (p.Gly180Ser)], et deux altérations d'épissage [c.429-1G>C ; c.538+1G>A].

Les variants déjà décrits dans la littérature qui ont été identifiés dans notre cohorte étaient :

- le variant bien connu au niveau du site d'épissage de l'exon 8 ; c.894G>A (p.Gln298=) *(Klima et al., 1993; Muntoni et al., 1995; Scott et al., 2013)*: les 12 patients atteints de CESD avaient au moins une copie de ce variant dont un patient homozygote,

- le variant au niveau d'un site d'épissage c.966G>C (p.Gln322His) *(Chabchoub et al., 2020)*

- la petite délétion non-sens c.398del (p.Ser133*) *(Ruiz-Andrés et al., 2017; Sadhukhan et al., 2014; Zschenker et al., 2001)* qui a été retrouvée chez 3 patients atteints de CESD sous la forme hétérozygote

- les variants non-sens c.193C>T (p.Arg65*) *(Burton et al., 2015b; Lohse et al., 2000; Redonnet-Vernhet et al., 1997)* ; c.796G>T (p.Gly266*) *(Aslanidis et al., 1996; Burton et al., 2015b; Fasano et al., 2012)* ; c.153 C>A (p. Tyr51*) *(Tinsa et al., 2019)*

- le variant faux-sens c.260G>T (p.Gly87Val) *(Valles-Ayoub et al., 2011)*

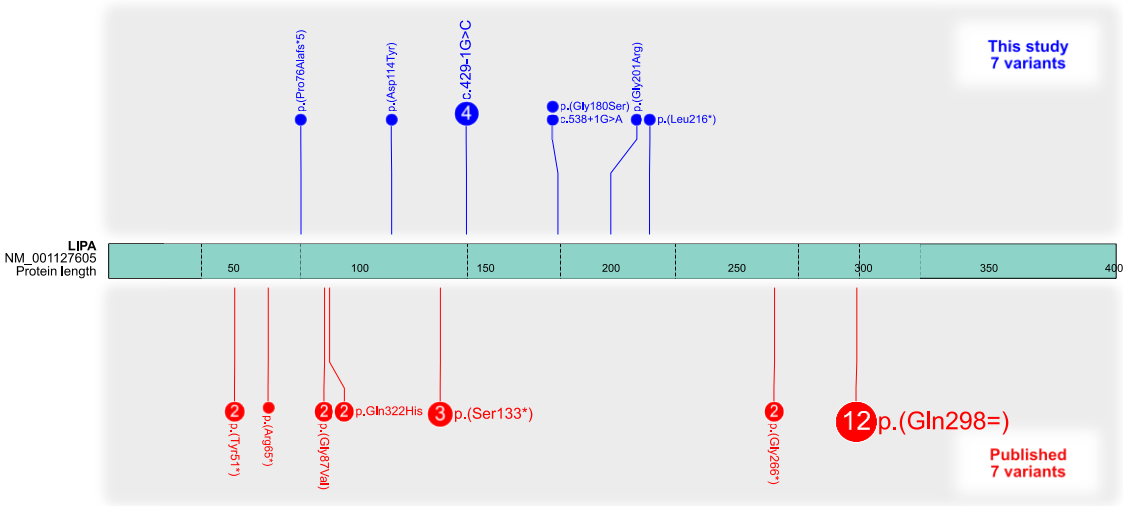


Figure 18: Variations moléculaires des dix-sept cas étudiés décrivant sept nouvelles variantes et sept variantes précédemment rapportées.
Le nombre d'allèles mutés est indiqué dans le cercle.
La taille de la bulle est proportionnelle au nombre d'allèles mutés

4 patients atteints de la maladie de Wolman sont décédés. Ce qui confirme que la forme infantile est une urgence diagnostique, car sans traitement l'évolution est rapide et fatale dans les premières années de vie. Il est donc essentiel d'identifier les patients affectés le plus tôt possible et de mettre en place un traitement avant l'apparition des symptômes irréversibles surtout que l'enzymothérapie substitutive (sebelipase alfa) représente une avancée majeure dans le traitement de ces maladies. Le développement de méthodes à haut débit, notamment basées sur l'utilisation du DBS qui présente de nombreux avantages comme un petit volume d'échantillon (70 µL de sang EDTA), une stabilité dans le temps et un transport à température ambiante vers des laboratoires spécialisés *(Hamilton et al., 2012)*, est nécessaire pour pouvoir

diagnostiquer le plus précocement ces maladies.

La mesure de l'activité enzymatique de la LAL sur des buvards de sang séché (DBS) selon la méthode de Halmilton et al donne de bons résultats, elle a une bonne sensibilité et une bonne spécificité. Elle utilise Lalistat 2, inhibiteur spécifique de la LAL, permettant d'enlever les interférences des autres lipases présentes dans le sang total. Ainsi la mesure de l'activité enzymatique de la LAL est possible en mesurant l'activité enzymatique totale et l'activité en présence de Lalistat 2. Mais cette technique a également ses limites : le dosage de l'activité enzymatique de la LAL ne prédit pas la gravité de la maladie, et les résultats du test ne doivent donc pas être utilisés pour attribuer un sous-type de maladie. De plus, c'est une technique en grande partie manuelle et qui ne permet pas des dosages en haut débit.

Masi et al. ont trouvé un nouveau substrat hautement spécifique de la LAL évitant d'effectuer deux tests en parallèle en présence et en l'absence de Lalistat-2 et permettant un dosage en chromatographie liquide-spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). A l'aide d'une bibliothèque d'analogue du substrat 4-MU palmitate, Masi et al. se sont aperçus que le P-PMHC était le substrat avec la meilleure spécificité pour la LAL, il s'est révélé être sélectif à plus de 98% pour la LAL dans le DBS. Le P-PMHC est un ester entre l'acide palmitique et la 4-propyl-8-méthyl-7-hydroxycoumarine.

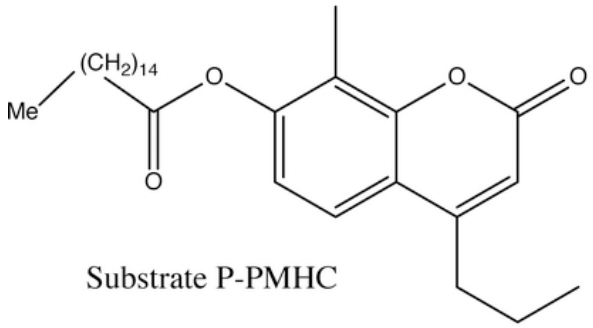


Figure 19: Structure du substrat P-PMHC (Masi et al., 2018)

Cette découverte est importante, car cette technique de dépistage au LC-MS / MS va permettre un dosage en haut débit rendant le dépistage néonatal réalisable. Compte tenu de la rareté de la carence en LAL, le dépistage néonatal de cette enzyme pourrait être pratique s'il pouvait être ajouté de façon multiplexe à un panel de dépistage néonatal.

V. Conclusion

La maladie de Wolman et la maladie de stockage des esters de cholestérol (CESD) sont des maladies héréditaires autosomiques récessives causées par une carence en LAL due à des variants pathogènes ou probablement pathogènes sur le gène *LIPA*. Cette enzyme est essentielle à la dégradation des esters de cholestérol et des triglycérides dans le lysosome.

Les caractéristiques cliniques comprennent la combinaison d'un dysfonctionnement hépatique et d'une dyslipidémie, conséquence de l'accumulation d'esters de cholestérol et/ou de triglycérides principalement dans le foie, la rate, les surrénales.

La maladie de Wolman se manifeste dès les premières semaines de la vie par des vomissements, des stéatorrhées, une distension abdominale secondaire à l'hépatosplénomégalie, des calcifications des surrénales sont présentes chez environ 50% des patients. Un retard de croissance et une anémie peuvent compléter ce tableau clinique. L'évolution sans traitement est très rapide et est fatale dans les premières années de vie.

La maladie de stockage des esters de cholestérol est moins sévère et peut ne se manifester que tardivement dans la vie, même à l'âge adulte, par une hépatomégalie, une stéatose évoluant vers une fibrose, une cirrhose et finalement vers une insuffisance hépatique. Une athérosclérose prématurée peut également se développer.

D'un point de vue biologique, on observe dans les 2 maladies une élévation des transaminases sériques et une dyslipidémie avec une concentration élevée de LDL cholestérol et de triglycérides, tandis que le HDL cholestérol est diminué.

Le diagnostic repose actuellement sur l'évaluation de l'activité enzymatique de la LAL selon la méthode de Halmilton et al., suivie de l'étude moléculaire du gène *LIPA* en NGS le cas échéant pour confirmer le diagnostic de LAL-D. L'activité de la LAL est absente ou inférieure à 1% dans la maladie de Wolman tandis qu'une certaine activité résiduelle de l'ordre de 1 à 12% est présente dans CESD.

L'analyse génétique du gène *LIPA* des 17 patients nous a permis d'élargir la connaissance du spectre moléculaire du LAL-D en identifiant sept nouveaux variants : six sous forme CESD [c.340G>T - p.(Asp114Tyr) ; c.232_243delins - p.(Pro76Alafs*5) ; c.538+1G>A -

p.(?) ; c.647T>G - p.(Leu216*) ; c.601G>C - p.(Gly201Arg) et c.538G>A - p.(Gly180Ser)] et un dans la maladie de Wolman: c.429-1G>C - p.(?).

Avant 2015, le seul traitement disponible était la greffe de cellules souches hématopoïétiques, mais elle a rarement réussi à prolonger la survie et est associée à un risque élevé de morbi-mortalité. Puis en 2015, le premier traitement enzymatique substitutif pour le traitement du déficit en LAL est commercialisé sous le nom de Kanuma (sébelipase alfa). C'est une protéine LAL humaine recombinante dont l'efficacité et l'innocuité chez les patients atteints de la maladie de Wolman ou de CESD sont à ce jour prometteurs, mais il est impératif d'évaluer les effets de la sebelipase alfa sur la progression de la maladie à long terme.

Il existe tout de même des inconvénients majeurs pour ce traitement. Tout d'abord son prix élevé, il s'agit d'un médicament orphelin, innovant et cher. Néanmoins, en France ces maladies ouvrent droit à une prise en charge intégrale de tous les soins par l'assurance maladie. Ces médicaments ne sont disponibles qu'en pharmacie hospitalière ce qui reste une contrainte pour le patient. Il est également important de mettre en place le traitement le plus rapidement possible avant l'apparition de symptômes irréversibles d'où la nécessité d'un diagnostic précoce. Le nouveau substrat (P-PMHC) découvert par Masi et al. combiné à un dosage haut débit multiplexe en LC-MS/MS permettraient un dépistage néonatal, une orientation diagnostique plus rapide, et une mise en place du traitement précocement.

Annexe 1

Pathologie	Protéine déficiente
Mucopolysaccharidose (MPS)	
MPS I / *Maladie de Hurler, maladie de Scheie*	α-Iduronidase
MPS II / *Maladie de Hunter*	Iduronate sulfatase
MPS III A / *Maladie de Sanfilippo*	Héparane sulfamidase
MPS III B / *Maladie de Sanfilippo*	Acétyl α-glucosaminidase
MPS III C / *Maladie de Sanfilippo*	Acétyl CoA: α-glucosaminide N-acétyltransférase
MPS III D / *Maladie de Sanfilippo*	N-acétyl glucosamine-6-sulfatase
MPS IV A / *Maladie de Morquio*	Acétyl galactosamine-6-sulfatase
MPS IV B / *Maladie de Morquio*	β-galactosidase
MPS VI / *Maladie de Maroteaux-Lamy*	Acétyl galactosamine 4-sulfatase (arylsulfate B)
MPS VII / *Maladie de Sly*	β-glucuronidase
MPS IX	Hyaluronidase
Glycoprotéinoses	
Aspartylglucosaminurie	Glycosylasparaginase
Fucosidose	α-Fucosidase
α-Mannosidose de type I/II	α-Mannosidase
β-Mannosidose	β-Mannosidase
Mucolipidose I / *Sialidose de type I/II*	Neuraminidase
Maladie de Schindler de type I/II	N-acetylgalactosaminidase
Sphingolipidoses	
Maladie de Fabry	α-Galactosidase A
Lipogranulomatose de Farber / *Maladie de Farber*	Ceramidase acide
Maladie de Gauche type I/II/III	Glucosylceramidase

Maladie de Gaucher atypique	Saposine C
GM1 gangliosidose type I/II/III	GM1-β-galactosidase
GM2 gangliosidose type I / *Maladie de Tay-Sachs*	β-Hexosaminidase A
GM2 gangliosidose type II / *Maladie de Sandhoff*	β-Hexosaminidase A + B
GM2 gangliosidose type AB	GM2 activateur
Maladie de Krabbe	β-Galactosylceramidase
Maladie de Krabbe	Saponoside A
Leucodystrophie métachromatique	Arylsulphatase A
Leucodystrophie métachromatique	Saponoside B
Maladie de Niemann-Pick du type A et B	Sphingomyelinase
Autres lipidoses	
Maladie de Niemann-Pick du type C1 et C2	NPC1, NPC2
Maladie de stockage en esters de cholestérol et maladie de Wolman	Lipase acide
Céroïde-lipofuscinose neuronale 1, CLN1 / *Maladie de Santavuori*	Palmitoyl protéine thioestérase (PPT1)
Céroïde-lipofuscinose neuronale 2, CLN2 / *Maladie de Jansky-Bielschowsky*	Tripeptidyl peptidase 1 (TPP1)
Céroïde-lipofuscinose neuronale 3, CLN3 / *Maladie de Batten*	CLN3, protéine transmembranaire lysosomale
Céroïde-lipofuscinose neuronale 5, CLN5	CLN5, protéine lysosomale soluble
Céroïde-lipofuscinose neuronale 6, CLN6	CLN6, protéine transmembranaire de ER
Céroïde-lipofuscinose neuronale 8, CLN8 / *Epilepsie de Northern*	CLN8, protéine transmembranaire du réticulum endoplasmique
Céroïde-lipofuscinose neuronale 9, CLN9	Protéine régulatrice de dihydrocéramide synthétase
Céroïde-lipofuscinose neuronale 10, CLN10	Cathepsin D
Glycogénoses	
Glycogénose type II / Maladie de Pompe	α1,4-glucosidase (maltase acide)

Annexe 2

Pathologie	Protéine déficiente
Défaut protéique lysosomal non enzymatique	
GM2 Gangliosidose, défaut de l'activateur	Protéine activatrice GM2
Leucodystrophie métachromatique	Saposine B
Krabbe	Saposine A
Gaucher	Saposine C
Défaut protéique transmembranaire - Transporteurs	
La maladie de stockage de l'acide sialique ; forme infantile (ISSD) et forme adulte (Salla)	Sialine
Cystinose	Cystinosine
Niemann-Pick Type C1	Niemann-Pick Type C1 (NPC1)
Niemann-Pick Type C2	Niemann-Pick Type C2 (NPC2)
Défaut protéique transmembranaire – Protéines structurelles	
Danon	Protéine 2 membranaire associée aux lysosomes
Mucolipidose IV	Mucolipine
Défaut de protection de l'enzyme lysosomale	
Galactosialidose	Protéine protectrice cathepsine A (PPCA)
Défaut de traitement post-traductionnel	
Carence multiple en sulfatase	Sulfatase multiple
Défauts de trafic dans les enzymes lysosomales	
Mucolipidose IIα / β, IIIα / β	GlcNAc-1-P transférase
Mucolipidose III γ	GlcNAc-1-P transférase
Défaut de dégradation du polypeptide	
Pycnodysostose	Cathepsin K

Annexe 3

Etudes cliniques	Méthodes	Résultats de l'efficacité	Effets indésirables rapportés
LAL-CL01 / extension LAL-CL04	Etudes de phase 1/2 multicentriques ouvertes, non randomisées chez des **adultes** présentant une dysfonction du foie due à une déficience en LAL Critère d'évaluation principal : innocuité et tolérabilité Critères d'évaluation secondaires : les paramètres hépatiques (ASAT, ALAT), valeur lipidique	- Amélioration des concentrations sériques en ALAT et ASAT - Amélioration du profil lipidique avec diminution du LDL-c, des triglycérides et augmentation du HDL-c	- Nausée, maux de tête, diarrhée - Evénement indésirable grave : cholécystite aiguë jugée peu probablement liée à la sebelipase alfa
LAL-CL02	Etude de phase 3 multicentrique, randomisée, à double aveugle versus placebo chez les **enfants** et les **adultes âgés de plus de 4 ans** atteints d'un déficit en LAL Critère d'évaluation principal : normalisation de l'ALAT Critères d'évaluation secondaires : normalisation des ASAT, réduction des concentrations en LDL-c, triglycérides, augmentation du HDL-c, réduction du pourcentage du contenu	- Taux plus important de patients avec ALAT normalisées dans le groupe sebelipase par rapport au groupe placebo (31% vs 7%) Après 52 semaines, 97 % des patients ont obtenu une diminution des ALAT et 100 % des patients après 100 semaines. - Taux plus important de patients avec ASAT normalisées dans le groupe	- Nausée, vomissement, diarrhée ; des troubles généraux avec maux de tête, fièvre et asthénie ; des infections des voies respiratoires supérieures et des rhinopharyngites - Présence d'anticorps anti-médicaments chez 5 patients sans effet sur l'efficacité - Evénement indésirable grave : réaction associée à la perfusion

	hépatique en lipide, l'innocuité et les effets indésirables	sebelipase par rapport au groupe placebo (42% vs 3%) - Amélioration du profil lipidique avec diminution du LDL-c, des triglycérides et augmentation du HDL-c - Réductions significatives de la teneur en graisse hépatique (- 31,98% vs - 4,21%)	
LAL-CL03 / extension LAL-CL05	Etudes de phase 2-3 multicentriques ouvertes, d'escalade de doses, chez des **enfants de moins de 2 ans** <u>Critère d'évaluation principal</u> : taux de survie à l'âge de 12 mois <u>Critères d'évaluation secondaires</u> : survie à 24 mois, le développement staturo-pondéral, les paramètres hépatiques et l'innocuité du traitement	- 6/9 nourrissons (67%) étaient toujours en vie à 12 mois. - 5/9 nourrissons ont survécu jusqu'à l'âge de 24 mois. - Amélioration anthropométrique - Amélioration de la fonction hépatique (réduction des concentrations en ALAT, ASAT et GGT) - Amélioration de l'hépatosplénomégalie - Amélioration des symptômes gastro-intestinaux.	- Diarrhées, vomissements, fièvre, rhinopharyngite, rhinite et dermatite - Présence d'anticorps anti-médicaments chez 4 patients - Evénement indésirable grave : réaction associée à la perfusion avec vomissements, fièvre, urticaire, tachycardie et pâleur

LAL-CL06	Etude ouverte, multicentrique **chez les enfants et les adultes âgés de plus de 8 mois** atteints d'un déficit en LAL. Critère d'évaluation principal : innocuité et tolérabilité Critères d'évaluation secondaires : normalisation des lipides sériques, des ALAT, des ASAT.	- Amélioration du profil lipidique avec diminution du LDL-c, des triglycérides et augmentation du HDL-c - Amélioration de l'hépatosplénomégalie et de la fonction hépatique avec réduction des concentrations en ALAT, ASAT et GGT	- Douleurs abdominales, vomissement, diarrhée, fièvre - Présence d'anticorps anti-médicaments chez 2 patients - Evénement indésirable grave : réaction associée à la perfusion, réaction anaphylactique nécessitant une désensibilisation
LAL-CL08	Etude de phase 2, ouverte, multicentrique, de dose répétée chez 10 **nourrissons** Critère d'évaluation principal : innocuité et tolérabilité Critères d'évaluation secondaires : pourcentage de survivants à 12, 18, 24, le développement staturo-pondéral, les paramètres hépatiques	- 9/10 nourrissons (90%) étaient en vie à 12 mois. - 8/10 nourrissons (80%) ont survécu jusqu'à l'âge de 24 mois. - Amélioration anthropométrique - Amélioration de la fonction hépatique (réduction des concentrations en ALAT, ASAT)	- Vomissement, diarrhée, fièvre, agitation, irritabilité - Présence d'anticorps anti-médicaments chez 6 patients sans effet sur l'efficacité - Evénement indésirable grave : réaction associée à la perfusion avec vomissements, fièvre, urticaire, tachycardie ou encore détresse respiratoire ; réaction anaphylactique

Annexe 4

Effets secondaires	Sebelipase Alfa	Placébo
Tous les effets secondaires	31 (86%)	28 (93%)
Mal de tête	10 (28%)	6 (20%)
Fièvre	7 (19%)	6 (20%)
Asthénie	3 (8%)	1 (3%)
Diarrhée	6 (17%)	5 (17%)
Douleur abdominale	3 (8%)	1 (3%)
Constipation	3 (8%)	1 (3%)
Nausée	3 (8%)	2 (7%)
Vomissement	3 (8%)	3 (10%)
Douleur oropharyngée	6 (17%)	1 (3%)
Infection des voies respiratoires supérieures	6 (17%)	6 (20%)
Epistaxis	4 (11%)	6 (20%)
Rhinopharyngite	4 (11%)	3 (10%)
Toux	3 (8%)	3 (10%)
Evénement indésirable grave	2 (6%)	1 (3%) = accident de voiture
Evénement indésirable grave lié au médicament	1 (3%)	0
Événement indésirable menant à la mort	0	0

Annexe 5

Déficit en Lipase Acide Lysosomale (LALD)

Renseignements cliniques

IMPORTANT ***Il est important de réaliser le bilan biologique lipidique chez tous les patients concernés afin de pouvoir renseigner les informations dans le pavé bleu.*** IMPORTANT

Un patient est éligible au dépistage du déficit en LAL :

- **Si les cases cochées totalisent plus de 4 +**
- **Et si les critères sont répartis à minima : soit 1 rouge + 1 bleu,**
  soit de 3 couleurs différentes.

Toute autre cause clinique, infectieuse ou génétique, en rapport avec les critères ci-dessous devra être écartée.

	Présent	
Atteinte Hépatique/splénique		
Hépatomégalie	+++	Wolman/CESD
ALAT > N	+++	Wolman/CESD
ASAT > N	+++	Wolman/CESD
Splénomégalie	+	Wolman/CESD
Stéatose (NAFLD/NASH)	++	CESD
Stéatose microvésiculaire	+++	CESD
Cellules de surcharge	+	CESD
Fibrose/Cirrhose inexpliquée	++	CESD
Atteinte cardiovasculaire/Dyslipidémie		
LDL ↑ (> 1,3 g/l enfant < 16 ans et > 1,6 g/l adulte) (> 3,4 mmol/l enfant < 16 ans et > 4,14 mmol/l adulte)	+++	Wolman/CESD
HDL ↓ (< 0,45 g/l enfant < 16 ans et < 0,5 g/l adulte) (< 1,17 mmol/l enfant < 16 ans et < 1,3 mmol/l adulte)	++	Wolman/CESD
Atteinte gastrointestinale		
Diarrhée/Vomissement	+++	Wolman
Ascite	+	Wolman
Autres		
Altération de l'état général	+++	Wolman
Anémie	+	Wolman/CESD
Thrombopénie	+	Wolman/CESD
Calcification des surrénales	+++	Wolman

Annexe 6

Patient	Genre	Age au diagnostic (an)	Maladie	Activité de la LAL	Variant 1, cDNA	Variant 1, Proteine	Variant 2, cDNA	Variant 2, Proteine	Enzymo-thérapie	Consan-guinité	Manifes-tations cliniques	↗ alanine aminotrans-ferase	Choles-terol (g/l)	LDL (g/l)	HDL (g/l)	Trigly-cérides (g/l)	Hyper-trigly-céridé-mie	Hypercho-lestérolé-mie
P1	F	0,4 †	Wolman	0,00	c.153C>A	p.Tyr51*	c.153C>A	p.Tyr51*	-	+	HM, SM, AP, CS, A, SH, FH, C	+	1,80			3,40	+	-
P2	M	20,10	CESD	0,00	c.398del	p.Ser133*	c.894G>A	p.Gln298=	-	-	HM, SH			2,20	0,32	1,52	+	+
P3	M	53,40	CESD	0,00	c.193C>T	p.Arg65*	c.894G>A	p.Gln298=	-	-	HM, SH	+						+
P4"	F	0,00	Wolman	0,00	c.429-1G>C	p.?	c.429-1G>C	p.?	+	+	HM, AP, RC, V	+	2,04	1,95	0,27	1,45	+	
P5	F	45,00	CESD	0,00	c.340G>T	p.Asp114Tyr	c.894G>A	p.Gln298=	-	-	HM, SH	+	2,40	3,00	0,50	1,01	-	+
P6	F	9,30	CESD	0,00	c.232_243delins	p.Pro76Alafs*5	c.894G>A	p.Gln298=	-	-	HM, SM, FH, ASCV	+	1,99	1,50	0,31	0,93	+	+
P7	F	10,90	CESD	0,00	c.538+1G>A	p.?	c.894G>A	p.Gln298=	-	-	HM, SM, D	+	2,62	1,75	0,30	2,89		+
P8	F	32,20	CESD	0,00						-	HM	+		2,52				+
P9	F	26,40	CESD	0,00	c.398del	p.Ser133*	c.894G>A	p.Gln298=		-	HM, SH, FH	+					+	+
P10	F	6,30	CESD	0,00	c.647T>G	p.Leu216*	c.894G>A	p.Gln298=	-	-	HM,SH	+	3,44	2,77		4,22	+	+
P11	M	6,60	CESD	0,01	c.601G>C	p.Gly201Arg	c.894G>A	p.Gln298=	+	-	HM, AP	+	3,00	2,40				+
P12	F	1,1 †	Wolman	0,02	c.966G>C	p.Gln322His	c.966G>C	p.Gln322His	-	+	HM, SH, SM, FH, CS, A	+	2,88	1,69	0,11	3,40	+	+
P13	F	3,90	CESD	0,02	c.538G>A	p.Gly180Ser	c.894G>A	p.Gln298=		-	HM, AP, FH,A	+	2,63	1,96	0,25	2,08	+	+
P14	F	5,20	CESD	0,03					+	-	HM, AP, RC, A, ASCV,D							
P15	M	0,1 †	Wolman	0,03	c.796G>T	p.Gly266*	c.796G>T	p.Gly266*	-	+	HM, SM, RC, ASCV, CS, D, A		0,66	0,25	0,10	2,04	-	-
P16"	M	0,3 †	Wolman	0,05	c.429-1G>C	p.?	c.429-1G>C	p.?	+	+	HM, SM, CS, A, RC	+	0,74			5,50	+	-
P17	M	9,20	CESD	0,01	c.894G>A	p.Gln298=	c.894G>A	p.Gln298=	-	+	HM, SH	+	2,99	2,68	0,40	0,79	-	+
P18	F	53,20	CESD	0,00	c.398del	p.Ser133*	c.894G>A	p.Gln298=		-	HM, SH	+					+	+
P19	F	0,20	Wolman	0,00	c.260G>T	p.Gly87Val	c.260G>T	p.Gly87Val	+	+	HM, SM, AP, CS, RC, V, A	+	1,06		0,12	3,75	+	-

Abréviations des manifestations cliniques : HM, hépatomégalie; SH, stéatose hépatique ; FH, fibrose hépatique ; C, cirrhose ; SM, splénomégalie ; AP, abdomen protubérant ; RC, retard de croissance ; CS, calcification surrénalienne ; ASCV, anomalie du système cardiovasculaire ; A, anémie ; V, vomissement ; D, diarrhée ; '' frère et sœur.

Annexe 7

Pathologie	Gène
Maladie lysosomale	
Alpha mannosidose	*MAN2B1*
Aspartylglucosaminurie	*AGA*
Béta mannosidose	*MANBA*
Céroide lipofuschinose neuronale 1	*PPT1*
Céroide lipofuschinose neuronale 2	*TPP1*
Céroide lipofuschinose neuronale 3	*CLN3*
Céroide lipofuschinose neuronale 4	*DNAJC5*
Céroide lipofuschinose neuronale 5	*CLN5*
Céroide lipofuschinose neuronale 6	*CLN6*
Céroide lipofuschinose neuronale 7	*MFSD8*
Céroide lipofuschinose neuronale 8	*CLN8*
Céroide lipofuschinose neuronale 10	*CTSD*
Céroide lipofuschinose neuronale 11	*GRN*
Cystinose	*CTNS*
Déficit multiple en sulfatases	*SUMF1*
Fucosidose	*FUCA1*
Galactosialidose	*CTSA*
Gangliosidose AB	*GM2A*
Leucodystrophie métachromatique	*ARSA*
Lipogranulomatose de Farber	*ASAH1*
Maladie de Danon	*LAMP2*
Maladie de Fabry	*GLA*
Maladie de Gaucher	*GBA*

Maladie de Krabbe	*GALC*
Maladie de Pompe	*GAA*
Maladie de Salla	*SLC17A5*
Maladie de Wolman	*LIPA*
MPS I Hurler	*IDUA*
MPS II Hunter	*IDS*
MPS III A	*SGSH*
MPS III B	*NAGLU*
MPS III C	*HGSNAT*
MPS III D	*GNS*
MPS IV A	*GALNS*
MPS IV B + gangliosidose GM1	*GLB1*
MPS IX	*HYAL1*
MPS VI	*ARSB*
MPS VII Sly	*GUSB*
Mucolipidose I sialidose	*NEU1*
Mucolipidose II/IIIA	*GNPTAB*
Mucolipidose IV	*MCOLN1*
Niemann Pick A et B	*SMPD1*
Niemann Pick C1	*NPC1*
Niemann Pick C2	*NPC2*
Ostéopétrose	*OSTM1*
Psycnodysostose	*CTSK*
Sandhoff	*HEXB*
Schindler	*NAGA*

Sialurie	*GNE*
Sphingolipidose complexe	*PSAP*
Tay Sachs	*HEXA*

Bibliographie

Abramov, A., Schorr, S., Wolman, M., 1956. Generalized xanthomatosis with calcified adrenals. AMA J. Dis. Child. 91, 282–286. https://doi.org/10.1001/archpedi.1956.02060020284010

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., 2008. Molecular Biology Of The Cell 5th, 5th ed.

Anderson, R.A., Rao, N., Byrum, R.S., Rothschild, C.B., Bowden, D.W., Hayworth, R., Pettenati, M., 1993. In Situ Localization of the Genetic Locus Encoding the Lysosomal Acid Lipase/Cholesteryl Esterase (LIPA) Deficient in Wolman Disease to Chromosome 10q23.2-q23.3. Genomics 15, 245–247. https://doi.org/10.1006/geno.1993.1052

Aslanidis, C., Ries, S., Fehringer, P., Büchler, C., Klima, H., Schmitz, G., 1996. Genetic and Biochemical Evidence That CESD and Wolman Disease Are Distinguished by Residual Lysosomal Acid Lipase Activity. Genomics 33, 85–93. https://doi.org/10.1006/geno.1996.0162

Balwani, M., Breen, C., Enns, G.M., Deegan, P.B., Honzík, T., Jones, S., Kane, J.P., Malinova, V., Sharma, R., Stock, E.O., Valayannopoulos, V., Wraith, J.E., Burg, J., Eckert, S., Schneider, E., Quinn, A.G., 2013. Clinical effect and safety profile of recombinant human lysosomal acid lipase in patients With cholesteryl ester storage disease. hepatology 58, 950–957. https://doi.org/10.1002/hep.26289

Bernstein, D.L., Hülkova, H., Bialer, M.G., Desnick, R.J., 2013. Cholesteryl ester storage disease: review of the findings in 135 reported patients with an underdiagnosed disease. J. Hepatol. 58, 1230–1243. https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.02.014

Boustany, R.-M.N., 2013. Lysosomal storage diseases--the horizon expands. Nat. Rev. Neurol. 9, 583–598. https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.163

Bowden, K.L., Bilbey, N.J., Bilawchuk, L.M., Boadu, E., Sidhu, R., Ory, D.S., Du, H., Chan, T., Francis, G.A., 2011. Lysosomal acid lipase deficiency impairs regulation of ABCA1 gene and formation of high density lipoproteins in cholesteryl ester storage disease. J. Biol. Chem. 286, 30624–30635. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.274381

Burton, B.K., Balwani, M., Feillet, F., Barić, I., Burrow, T.A., Camarena Grande, C., Coker, M., Consuelo-Sánchez, A., Deegan, P., Di Rocco, M., Enns, G.M., Erbe, R., Ezgu, F., Ficicioglu, C., Furuya, K.N., Kane, J., Laukaitis, C., Mengel, E., Neilan, E.G., Nightingale, S., Peters, H., Scarpa, M., Schwab, K.O., Smolka, V., Valayannopoulos, V., Wood, M., Goodman, Z., Yang, Y., Eckert, S., Rojas-Caro, S., Quinn, A.G., 2015a. A Phase 3 Trial of Sebelipase Alfa in Lysosomal Acid Lipase Deficiency. N. Engl. J. Med. 373, 1010–1020. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1501365

Burton, B.K., Consuelo-Sánchez, A., Kostyleva, M., Martins, A.M., Marulkar, S., Abel, F., Barić, I., 2019. Efficacy and safety of sebelipase alfa over 144 weeks in a diverse

population of children and adults with lysosomal acid lipase deficiency. J. Hepatol. 70, 121–122.

Burton, B.K., Deegan, P.B., Enns, G.M., Guardamagna, O., Horslen, S., Hovingh, G.K., Lobritto, S.J., Malinova, V., McLin, V.A., Raiman, J., Di Rocco, M., Santra, S., Sharma, R., Sykut-Cegielska, J., Whitley, C.B., Eckert, S., Valayannopoulos, V., Quinn, A.G., 2015b. Clinical Features of Lysosomal Acid Lipase Deficiency. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 61, 619–625. https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000935

Cabukusta, B., Neefjes, J., 2018. Mechanisms of lysosomal positioning and movement. Traffic 19, 761–769. https://doi.org/10.1111/tra.12587

Chabchoub, I., Boudabbous, H., Maaloul, I., Ben Abdelaziz, R., Ben Chehida, A., Ayadi, L., Kamoun, T., Tebib, N., Boudaouara, T., Bekri, S., Hachicha, M., 2020. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: A Rare Complication of an Ultrarare Lysosomal Storage Disease. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 42, 310–312. https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000001552

Clinical Study In Infants With Rapidly Progressive Lysosomal Acid Lipase Deficiency - Study Results - ClinicalTrials.gov [WWW Document], n.d. URL https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT02193867 (accessed 4.10.20).

Consuelo-Sánchez, A., Vázquez-Frias, R., Reyes-De La Rosa, A., Acosta-Rodríguez-Bueno, C.P., Ortal-Vite, M.P., Cebolla, J.J., 2019. Mutations identified in a cohort of Mexican patients with lysosomal acid lipase deficiency. Ann. Hepatol. 18, 646–650. https://doi.org/10.1016/j.aohep.2018.07.005

Fasano, T., Pisciotta, L., Bocchi, L., Guardamagna, O., Assandro, P., Rabacchi, C., Zanoni, P., Filocamo, M., Bertolini, S., Calandra, S., 2012. Lysosomal lipase deficiency: Molecular characterization of eleven patients with Wolman or cholesteryl ester storage disease. Mol. Genet. Metab., Program and Abstracts for the 2012 Meeting of the Society for Inherited Metabolic Disorders 105, 450–456. https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.12.008

Filocamo, M., Morrone, A., 2011. Lysosomal storage disorders: Molecular basis and laboratory testing. Hum. Genomics 5, 156. https://doi.org/10.1186/1479-7364-5-3-156

Germain, D.P., Boucly, C., Carlier, R.Y., Caudron, E., Charlier, P., Colas, F., Jabbour, F., Martinez, V., Mokhtari, S., Orlikowski, D., Pellegrini, N., Perronne, C., Prigent, H., Rubinsztajn, R., Benistan, K., 2010. Thérapies enzymatiques substitutives des maladies lysosomales. Rev. Médecine Interne 13.

Goldstein, J.L., Dana, S.E., Faust, J.R., Beaudet, A.L., Brown, M.S., 1975. Role of lysosomal acid lipase in the metabolism of plasma low density lipoprotein. Observations in cultured fibroblasts from a patient with cholesteryl ester storage disease. J. Biol. Chem. 250, 8487–8495.

Gramatges, M.M., Dvorak, C.C., Regula, D.P., Enns, G.M., Weinberg, K., Agarwal, R., 2009. Pathological evidence of Wolman's disease following hematopoietic stem cell

transplantation despite correction of lysosomal acid lipase activity. Bone Marrow Transplant. 44, 449–450. https://doi.org/10.1038/bmt.2009.57

Hamilton, J., Jones, I., Srivastava, R., Galloway, P., 2012. A new method for the measurement of lysosomal acid lipase in dried blood spots using the inhibitor Lalistat 2. Clin. Chim. Acta 413, 1207–1210. https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.03.019

Illumina.com, 2017. Illumina Sequencing Overview.

Jones, S.A., Rojas-Caro, S., Quinn, A.G., Friedman, M., Marulkar, S., Ezgu, F., Zaki, O., Gargus, J.J., Hughes, J., Plantaz, D., Vara, R., Eckert, S., Arnoux, J.-B., Brassier, A., Le Quan Sang, K.-H., Valayannopoulos, V., 2017. Survival in infants treated with sebelipase Alfa for lysosomal acid lipase deficiency: an open-label, multicenter, dose-escalation study. Orphanet J. Rare Dis. 12, 25. https://doi.org/10.1186/s13023-017-0587-3

Jones, S.A., Valayannopoulos, V., Schneider, E., Eckert, S., Banikazemi, M., Bialer, M., Cederbaum, S., Chan, A., Dhawan, A., Di Rocco, M., Domm, J., Enns, G.M., Finegold, D., Gargus, J.J., Guardamagna, O., Hendriksz, C., Mahmoud, I.G., Raiman, J., Selim, L.A., Whitley, C.B., Zaki, O., Quinn, A.G., 2016. Rapid progression and mortality of lysosomal acid lipase deficiency presenting in infants. Genet. Med. 18, 452–458. https://doi.org/10.1038/gim.2015.108

Jyonouchi, H., Cyong, J.-C., Shen, F.-W., Fernandes, G., Day, N.K., Good, R.A., 1982. Alteration of murine serum lipase activity after allogeneic bone marrow transplantation. Clin. Immunol. Immunopathol. 22, 94–104. https://doi.org/10.1016/0090-1229(82)90026-5

Klima, H., Ullrich, K., Aslanidis, C., Fehringer, P., Lackner, K.J., Schmitz, G., 1993. A splice junction mutation causes deletion of a 72-base exon from the mRNA for lysosomal acid lipase in a patient with cholesteryl ester storage disease. J. Clin. Invest. 92, 2713–2718.

Krivit, W., Peters, C., Dusenbery, K., Ben-Yoseph, Y., Ramsay, N.K.C., Wagner, J.E., Anderson, R., 2000. Wolman disease successfully treated by bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant. 26, 567–570. https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1702557

Kyriakides, E.C., Paul, B., Balint, J.A., 1972. Lipid accumulation and acid lipase deficiency in fibroblasts from a family with Wolman's disease, and their apparent correction in vitro. J. Lab. Clin. Med. 80, 810–816.

Lohse, Peter, Maas, S., Lohse, Pia, Elleder, M., Kirk, J.M., Besley, G.T.N., Seidel, D., 2000. Compound heterozygosity for a Wolman mutation is frequent among patients with cholesteryl ester storage disease.

Marques, A.R.A., Saftig, P., 2019. Lysosomal storage disorders – challenges, concepts and avenues for therapy: beyond rare diseases. J. Cell Sci. 132. https://doi.org/10.1242/jcs.221739

Medina, D.L., Di Paola, S., Peluso, I., Armani, A., De Stefani, D., Venditti, R., Montefusco, S., Scotto-Rosato, A., Prezioso, C., Forrester, A., Settembre, C., Wang, W., Gao, Q., Xu, H., Sandri, M., Rizzuto, R., De Matteis, M.A., Ballabio, A., 2015. Lysosomal calcium signaling regulates autophagy via calcineurin and TFEB. Nat. Cell Biol. 17, 288–299. https://doi.org/10.1038/ncb3114

Meikle, P.J., Hopwood, J.J., Clague, A.E., Carey, W.F., 1999. Prevalence of Lysosomal Storage Disorders. JAMA 281, 249–254. https://doi.org/10.1001/jama.281.3.249

Muntoni, S., Wiebusch, H., Funke, H., Ros, E., Seedorf, U., Assmann, G., 1995. Homozygosity for a splice junction mutation in exon 8 of the gene encoding lysosomal acid lipase in a Spanish kindred with cholesterol ester storage disease (CESD). Hum. Genet. 95, 491–494. https://doi.org/10.1007/BF00223858

Pastores, G.M., Hughes, D.A., 2020. Lysosomal Acid Lipase Deficiency: Therapeutic Options. Drug Des. Devel. Ther. 14, 591–601. https://doi.org/10.2147/DDDT.S149264

Pritchard, A.B., Strong, A., Ficicioglu, C., 2020. Persistent dyslipidemia in treatment of lysosomal acid lipase deficiency. Orphanet J. Rare Dis. 15. https://doi.org/10.1186/s13023-020-1328-6

Pu, J., Guardia, C.M., Keren-Kaplan, T., Bonifacino, J.S., 2016. Mechanisms and functions of lysosome positioning. J. Cell Sci. 129, 4329–4339. https://doi.org/10.1242/jcs.196287

Redonnet-Vernhet, I., Chatelut, M., Basile, J.-P., Salvayre, R., Levade, T., 1997. Cholesteryl Ester Storage Disease: Relationship between Molecular Defects andin SituActivity of Lysosomal Acid Lipase. Biochem. Mol. Med. 62, 42–49. https://doi.org/10.1006/bmme.1997.2626

Reiner, Ž., Guardamagna, O., Nair, D., Soran, H., Hovingh, K., Bertolini, S., Jones, S., Ćorić, M., Calandra, S., Hamilton, J., Eagleton, T., Ros, E., 2014. Lysosomal acid lipase deficiency – An under-recognized cause of dyslipidaemia and liver dysfunction. Atherosclerosis 235, 21–30. https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.04.003

Résumé des caractéristiques du produit - KANUMA 2 mg/ml, solution à diluer pour perfusion - European Medicines Agency [WWW Document], 2015. URL https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/kanuma-epar-product-information_fr.pdf

Ries, S., Aslanidis, C., Fehringer, P., Carel, J.C., Gendrel, D., Schmitz, G., 1996. A new mutation in the gene for lysosomal acid lipase leads to Wolman disease in an African kindred. J. Lipid Res. 37, 1761–1765.

Ruiz-Andrés, C., Sellés, E., Arias, A., Gort, L., 2017. Lysosomal Acid Lipase Deficiency in 23 Spanish Patients: High Frequency of the Novel c.966+2T>G Mutation in Wolman Disease. JIMD Rep. 37, 7–12. https://doi.org/10.1007/8904_2017_6

Sadhukhan, M., Saha, A., Vara, R., Bhaduri, B., 2014. Infant case of lysosomal acid lipase deficiency: Wolman's disease. BMJ Case Rep. 2014. https://doi.org/10.1136/bcr-2013-202652

Scott, S.A., Liu, B., Nazarenko, I., Martis, S., Kozlitina, J., Yang, Y., Ramirez, C., Kasai, Y., Hyatt, T., Peter, I., Desnick, R.J., 2013. Frequency of the Cholesteryl Ester Storage Disease Common LIPA E8SJM Mutation (c.894G>A) in Various Racial and Ethnic Groups. Hepatol. Baltim. Md 58, 958–965. https://doi.org/10.1002/hep.26327

Stein, J., Garty, B.Z., Dror, Y., Fenig, E., Zeigler, M., Yaniv, I., 2007. Successful treatment of Wolman disease by unrelated umbilical cord blood transplantation. Eur. J. Pediatr. 166, 663–666. https://doi.org/10.1007/s00431-006-0298-6

Tinsa, F., Ben Romdhane, M., Boudabous, H., Bel Hadj, I., Brini, I., Tebib, N., Louati, H., Bekri, S., Boussetta, K., 2019. A Novel Mutation c.153 C>A in a Tunisian Girl With Wolman Disease and Unusual Presentation: Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 41, e193. https://doi.org/10.1097/MPH.0000000000001192

Tolar, J., Petryk, A., Khan, K., Bjoraker, K.J., Jessurun, J., Dolan, M., Kivisto, T., Charnas, L., Shapiro, E.G., Orchard, P.J., 2009. Long-term metabolic, endocrine, and neuropsychological outcome of hematopoietic cell transplantation for Wolman disease. Bone Marrow Transplant. 43, 21–27. https://doi.org/10.1038/bmt.2008.273

Valles-Ayoub, Y., Esfandiarifard, S., No, D., Sinai, P., Khokher, Z., Kohan, M., Kahen, T., Darvish, D., 2011. Wolman Disease (LIPA p.G87V) Genotype Frequency in People of Iranian-Jewish Ancestry. Genet. Test. Mol. Biomark. 15, 395–398. https://doi.org/10.1089/gtmb.2010.0203

Vitner, E.B., Platt, F.M., Futerman, A.H., 2010. Common and Uncommon Pathogenic Cascades in Lysosomal Storage Diseases. J. Biol. Chem. 285, 20423–20427. https://doi.org/10.1074/jbc.R110.134452

Yanir, A., Allatif, M.A., Weintraub, M., Stepensky, P., 2013. Unfavorable outcome of hematopoietic stem cell transplantation in two siblings with Wolman disease due to graft failure and hepatic complications. Mol. Genet. Metab. 109, 224–226. https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.03.007

Zschenker, O., Jung, N., Rethmeier, J., Trautwein, S., Hertel, S., Zeigler, M., Ameis, D., 2001. Characterization of lysosomal acid lipase mutations in the signal peptide and mature polypeptide region causing Wolman disease. J. Lipid Res. 42, 1033–1040.

SERMENT DE GALIEN

Je jure d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma Profession.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois méprisé de mes Confrères si je manque à mes engagements.



Alexandra LE PALLEC

CESD et maladie de Wolman : aspects cliniques, biologiques et thérapeutiques, à propos de 19 observations.

Th. D. Pharm., Rouen, 2021, 90 p.

RESUME

La maladie de Wolman et la Maladie de Stockage des Esters du Cholestérol (CESD) sont des maladies lysosomales d'origine génétique. Leur transmission est autosomique récessive. Elles sont causées par des variants pathogènes ou probablement pathogènes sur le gène *LIPA* qui code pour la lipase acide lysosomal (LAL). Ce déficit en LAL provoque l'accumulation, au sein des lysosomes, d'esters de cholestérol et de triglycérides responsable d'une atteinte plus ou moins progressive de nombreux organes (atteintes hépatiques, surrénaliennes, …).

L'absence complète d'activité de la LAL cause la maladie de Wolman, forme infantile la plus rapidement évolutive qui est fatale dans les premiers mois de la vie en l'absence de traitement. On observe une apparition plus tardive de la CESD du fait que la LAL conserve une certaine activité résiduelle.

La prévalence estimée à partir des études génétiques est d'environ 1/500 000 pour la maladie de Wolman et de 1/40 000 pour la CESD. Cette estimation est en conflit avec le petit nombre de cas de LAL-D rapportés dans la littérature, indiquant que ces maladies sont considérablement sous-diagnostiquées. Pourtant le diagnostic précoce conditionne le pronostic compte tenu de la disponibilité récente d'une nouvelle thérapie.

MOTS CLES : Maladie de Wolman – Maladie de Stockage des Esters du Cholestérol – Lysosome – Déficit en Lipase Acide Lysosomal – *LIPA* – Sebelipase alfa – Maladie lysosomale – LAL

JURY

Président : Monsieur Le Professeur Loïc FAVENNEC, PU-PH

Membres : Madame Le Professeur Soumeya BEKRI, PU-PH

Madame Le Docteur Stéphanie TORRE, PU

Madame Le Docteur Virginie BESSOU, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE : 13 avril 2021