



HAL
open science

Neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer : état des lieux, perspectives diagnostiques et thérapeutiques

Chloé Ariane Angelini

► **To cite this version:**

Chloé Ariane Angelini. Neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer : état des lieux, perspectives diagnostiques et thérapeutiques. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03414577

HAL Id: dumas-03414577

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03414577>

Submitted on 4 Nov 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.

U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2021

Thèse n°3100

THESE POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par Chloé, Ariane ANGELINI

Née le 10 février 1994 à Paris

Le 13 octobre 2021

**NEURODEGENERESCENCES AVEC ACCUMULATION
INTRACEREBRALE DE FER : ETAT DES LIEUX, PERSPECTIVES
DIAGNOSTIQUES ET THERAPEUTIQUES**

Sous la direction du Professeur Cyril GOIZET

Membres du jury :

Monsieur le Professeur Benoit ARVEILER	Président
Monsieur le Professeur David DEVOS	Rapporteur
Madame le Docteur Patricia FERGELOT	Examineur
Monsieur le Professeur Dominique GUEHL	Examineur
Madame le Professeur Caroline ROORYCK-THAMBO	Examineur
Monsieur le Docteur Aurélien TRIMOUILLE	Examineur

REMERCIEMENTS

A l'issue de ce travail, je tiens tout d'abord à remercier l'ensemble des patients dont les données médicales sont présentées dans cette thèse, ainsi que leurs familles, et leurs différentes équipes médicales. Des remerciements tout particuliers sont destinés au laboratoire de biologie moléculaire, qui a réalisé le séquençage des exomes, grâce au travail de Julie Deforges, Laetitia Gaston, Claudio Plaisant, Virginie Raclet et Kévin Merchadou.

Au Professeur Cyril Goizet, merci de m'avoir fait découvrir et aimer la neurogénétique dès le début de mon internat. Merci pour ton dynamisme, ton engagement, et la confiance que tu m'as accordée. Je suis très honorée que tu m'aies confié ce travail de thèse, et j'ai hâte de poursuivre l'aventure de la neurogénétique.

Au Professeur David Devos, c'est un immense honneur que vous me faites d'accepter de rapporter ce travail. L'excellence de vos connaissances en neurogénétique et plus particulièrement dans les accumulations cérébrales de fer est un exemple à suivre. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

Au Professeur Benoit Arveiler, merci d'accepter de présider ce jury de thèse. Merci pour ton accueil au sein de la génétique bordelaise depuis le début de cet internat, ta disponibilité et la liberté que tu m'as donnée dans la construction de cet internat. Voici en ces mots l'expression de ma reconnaissance.

Au Professeur Dominique Guehl, merci d'accepter de juger ce travail. Je suis très reconnaissante et honorée que vous ayez accepté de participer à ce jury.

Au Docteur Patricia Fergelot, je te remercie pour ton enseignement de la génétique depuis le début de cet internat, et ta disponibilité tout au long de ce travail de thèse. Ton humilité, tes connaissances scientifiques et médicales impressionnantes ont rendu ces années extrêmement enrichissantes. Je suis très honorée que tu aies accepté de participer à ce travail de thèse, et te prie de voir ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Au Professeur Rooryck-Thambo, merci pour l'honneur que tu me fais en acceptant de juger ce travail. Ton dynamisme, ta rigueur et ton enthousiasme sont un exemple à suivre. Trouve en ces mots l'expression de ma reconnaissance et de mon respect.

Au Docteur Aurélien Trimouille, je te remercie d'accepter de juger ce travail de thèse. Merci pour ton accompagnement tout au long de cet internat, et tout particulièrement ton enseignement de la bioinformatique. Ta rigueur, tes conseils et tes encouragements m'ont beaucoup aidé dans ce travail de thèse.

Au Professeur Sandra Mercier, merci de m'avoir fait découvrir la génétique médicale lors du programme JPEMS. C'est grâce à votre enseignement et accueil dans votre service que je soutiens ma thèse dans cette discipline aujourd'hui.

Je remercie l'ensemble des services bordelais dans lesquels j'ai eu la chance d'être formée, le service de génétique clinique, le laboratoire de biologie moléculaire, le laboratoire de cytogénétique, le service de neuropédiatrie, mais également l'équipe de neurogénétique de la Pitié Salpêtrière, le service de neurologie bayonnaise et l'équipe de génétique des maladies mitochondriales à l'Institut Imagine. Merci à l'ensemble des équipes pour votre accueil, votre pédagogie et votre bienveillance. Des remerciements tout particuliers vont au Professeur Didier Lacombe, pour votre accueil au sein de la génétique bordelaise et votre enseignement de la discipline. Votre connaissance impressionnante de la génétique et votre passion pour la transmission de votre savoir ont rendu ces années d'internat très riches. Veuillez trouver en ces quelques mots l'expression de mon admiration et de ma reconnaissance.

Je remercie le Professeur Alexandra Durr, pour votre enseignement de la neurogénétique dans l'ensemble de ses dimensions, bien plus larges que médicales, et pour ce premier confinement passé à vos côtés dans l'ICM. Je remercie le Docteur Emmanuel Ellie, pour votre enseignement si riche de la neurologie, mais également toutes les pauses culturelles que vous introduisiez lors de vos visites. Je remercie Krystle Joseph, pour ta douceur et ta gentillesse, c'est toujours une joie de te trouver au 1^{er} étage de l'hôpital des enfants. Je remercie le Docteur Caroline Espil-Taris, pour ton enseignement de la neuropédiatrie juste et bienveillant, et pour les week-end d'astreinte dans le service passés à tes côtés. Je remercie le Docteur Marie Thibaud, pour ton humour, ton dynamisme et ta spontanéité, ces six mois intenses de neuropédiatrie auraient été beaucoup plus fades sans ta présence. Je remercie le Docteur Julien Van Gils, pour ton humour

piquant, mais surtout pour ton enseignement de l'observation, ta connaissance de la « syndromologie » impressionnante, et ton écoute si juste des patients et de leurs familles. Je remercie le Docteur Eulalie Lasseaux, pour ton accueil, ton écoute et toutes les discussions (parfois bien tardives !) depuis le début de cet internat. Je remercie la famille Coste et l'association Autour du BPAN, merci pour ces échanges si riches lors de cette année, vous donnez un sens tout autre à ce travail. Je remercie Claudio Plaisant, le « maître boulet » comme tu aimes être appelé, merci pour ton enseignement bienveillant de la génétique moléculaire, pour tous ces échanges lors de la réalisation de cette thèse. Cette thèse ne serait pas la même sans ton soutien et tes conseils durant ce travail.

A tous les co-internes rencontrés lors de cet internat, pour ces semestres partagés, les moments de travail intenses mais également ceux de détente. C'était à chaque fois un plaisir de travailler avec vous.

A tous les internes de génétique, rencontrés lors des semaines de cours, congrès et séminaires. Des pensées toute particulières vont à la « généteam » de la promotion 2017, vous êtes devenus des amis précieux durant cet internat, et donnez une saveur toute particulière aux congrès et formations passés ensemble.

A ma famille, pour votre soutien sans faille et votre intérêt sans cesse renouvelé pour cette spécialité atypique. A Théo et Paco, à tous les kilomètres (par)courus, et aux blagues de qualité variable mais toujours aussi drôles.

Aux Jules Verniens, pour cette amitié si simple et solide depuis tant d'années maintenant. A notre groupe qui s'agrandit avec joie. A tous nos moments partagés, et surtout à ceux à venir.

Aux Juliettes. A la petite et à la grande, pour l'amitié intense et sportive. A la grande Juliette, aux montagnes gravies ensemble, et à notre expérience angevine du JPEMS, qui m'a permis de découvrir avec joie le monde de la génétique.

Aux copains de Bordeaux, à nos matins chantants, à nos soirées ensoleillées, à l'apprentissage de l'escalade, aux petits meurtres de la rue Huguerie, aux débats passionnés, à la découverte des richesses culinaires régionales, merci de rendre le quotidien si singulier depuis le début de cet internat. Askatasunera !

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION	10
2	MATERIEL ET METHODES.....	11
2.1	Revue de la littérature	11
2.1.1	Sélection des articles	11
2.1.2	Sélection des conférences.....	11
2.2	Base de patients	11
2.2.1	Recueil des données des patients	11
2.2.2	Recueil du consentement, déclarations légales	13
2.2.3	Constitution de la base de patients	13
2.3	Analyses génétiques	13
2.3.1	Prélèvements	13
2.3.2	Panel NBIA	13
2.3.3	Exome en trio pour les patients sans diagnostic moléculaire à l'issue du panel ..	14
3	REVUE DE LA LITTERATURE	19
3.1	Histoire des NBIA.....	19
3.2	Critères diagnostiques	21
3.2.1	Clinique	21
3.2.2	Imagerie.....	22
3.2.3	Génétique	23
3.2.4	Proposition d'une conduite à tenir diagnostique	24
3.2.5	Prise en charge commune.....	26
3.3	Sous types de NBIA : description clinique, paraclinique, thérapeutiques et perspectives	35
3.3.1	Répartition des sous types de NBIA	35
3.3.2	Neurodégénérescence par déficit en pantothénate kinase (OMIM #606157).....	36
3.3.3	Dystrophie neuroaxonale infantile, ou neurodégénérescence associée à la phospholipase de type A2, (OMIM #256600 et OMIM #610217).....	43

3.3.4	Neurodégénérescence associée à la protéine de membrane mitochondriale (MPAN, mitochondrial membrane protein associated neurodegeneration) (OMIM #624298)	47
3.3.5	Neurodégénérescence associée à la protéine beta-propeller (OMIM #300894) ..	51
3.3.6	Neurodégénérescence associée à <i>FA2H</i> (FAHN, fatty acid hydroxylase-associated neurodegeneration), (OMIM #612319)	56
3.3.7	Neurodégénérescence associée à la protéine COASY (OMIM #615643)	58
3.3.8	Neuroferritinopathie (OMIM #606159)	61
3.3.9	Acéruéléoplasminémie (OMIM #604290)	63
3.3.10	Le syndrome de Woodhouse-Sakati (OMIM #241080)	65
3.3.11	Le syndrome de Kufor-Rakeb (OMIM #606693)	66
3.3.12	Nouveaux gènes	68
3.4	Fer, du métabolisme normal à son accumulation	71
3.4.1	Métabolisme du fer	71
3.4.2	Fer et cerveau	77
3.4.3	Dérégulation du métabolisme du fer : exemples pathologiques	78
4	RESULTATS	80
4.1	Patients avec un diagnostic génétique à l'issue du panel	80
4.1.1	Généralités	80
4.1.2	Caractéristiques cliniques, paracliniques et génétiques	81
4.2	Patients sans diagnostic génétique à l'issue du panel	90
4.2.1	Généralités	90
4.2.2	Caractéristiques cliniques	90
4.2.3	Caractéristiques paracliniques	92
4.2.4	Caractéristiques génétiques	94
4.3	Patients ayant bénéficié d'exome en trio	101
4.3.1	Patiente n°1	101
4.3.2	Patient n°2	110
4.3.3	Patient n°3	117

4.3.4	Patient n°4	122
4.4	Rentabilité du panel.....	130
5	DISCUSSION ET CONCLUSION	132
5.1	Patients du laboratoire bordelais avec panel NBIA positif	132
5.1.1	Concordance avec les données de la littérature.....	132
5.1.2	Présentations atypiques et apport du panel	132
5.1.3	Rentabilité du panel et hypothèses	135
5.2	Patients du laboratoire bordelais avec panel NBIA négatif	136
5.2.1	Analyse des données des patients.....	136
5.2.2	Familles passées en exome : pistes dégagées.....	136
5.3	Quelles sont les hypothèses pour les patients sans diagnostic après le séquençage d'exome ?	139
5.3.1	Erreurs diagnostiques	139
5.3.2	Connaissances insuffisantes des maladies ultra-rares	140
5.3.3	Hérédité complexe.....	140
5.3.4	Limitations techniques du séquençage d'exome.....	141
5.3.5	Preuves fonctionnelles manquantes pour les gènes candidats	141
5.3.6	Accumulation intracérébrale de fer liée à l'âge	142
5.3.7	Susceptibilité génétique à l'accumulation intracérébrale de fer, et le rôle suspecté de variants hypomorphes	142
5.4	L'accumulation intracérébrale de fer : un dénominateur commun à de nombreuses maladies neurodégénératives	144
5.5	Perspectives bordelaises dans le domaine des NBIA.....	147
5.5.1	Perspectives diagnostiques	147
5.5.2	Projets d'études fonctionnelles.....	147
5.6	Perspectives thérapeutiques.....	149
5.6.1	Chélation du fer.....	149
5.6.2	Traitements spécifiques à un sous-type de NBIA	151

5.6.3	Modification de l'homéostasie du fer.....	152
5.7	Conclusion.....	154
6	ANNEXES.....	155
6.1	Liste des gènes par filtre GTEX.....	155
6.2	Table des figures	156
6.3	Table des tableaux.....	160
7	REFERENCES	161
8	SERMENT D'HIPPOCRATE.....	177

ABBREVIATIONS, GLOSSAIRE

ALD : affection longue durée
ANAD : atypical neuroaxonal dystrophy
AP4M1 : adaptor-related protein complex 4, mu-1 subunit
ATP13A2 : ATPase 13A2
BPAN : beta propeller associated neurodegeneration
C19orf12: chromosome 19 open reading frame 12
CGH-array: comparative genomic hybridization array
CP : céruléoplasmine
CoA: coenzyme A
COASY : coenzyme A synthase
COPAN : Coenzyme A synthase protein-associated neurodegeneration
CRAT : carnitine acetyltransferase
CST : coefficient de saturation de la transferrine
DCAF17: DDB1- and CUL4-associated factor 17
DMT1 : divalent metal transporter 1
EDTA : Éthylène-Diamine-Tétra-Acétique
FA2H : fatty acid 2-hydroxylase
FAHN: fatty acid 2-hydroxylase associated neurodegeneration
FFE: fast field echo
FLAIR: fluid attenuated inversion recovery
FTL: ferritin light chain
GTPBP2: GTP Binding Protein 2
INAD: infantile neuroaxonal dystrophy
IRE: iron regulatory element
IRP : iron regulatory protein
ISRS : inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine
ISRNA : inhibiteur sélectif de la recapture de la noradrénaline
MDPH : maison départementale des personnes handicapées
MPAN: mitochondrial protein associated neurodegeneration
NBIA : neurodegeneration with brain iron accumulation
NGS: next generation sequencing
PANK2 : pantothenate kinase type 2
PKAN: pantothénate kinase associated neurodegeneration
PLA2G6 : phospholipase A2 groupe IV
PLAN: phospholipase associated neurodegeneration
REPS1: RALBP1-associated EPS domain-containing protein 1
SCP2: sterol carrier protein 2
SWI: susceptibility weighed images
TfR1: transferrin receptor type 1
WDR45: WD repeat-containing protein 45

1 INTRODUCTION

Les neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer, ou NBIA (*neurodegeneration with brain iron accumulation*) sont un groupe de pathologies héréditaires, ayant pour dénominateur commun une accumulation anormale de fer dans les ganglions de la base du cerveau (1).

Les NBIA font partie des maladies extrêmement rares, avec une prévalence estimée à 1 individu sur 1 000 000 atteint (2).

Ce groupe de pathologies est hétérogène, avec des présentations cliniques variables, des âges de début allant de la petite enfance à l'âge adulte. Les manifestations cliniques sont également variées, avec principalement une dystonie, une dysarthrie, une spasticité, des troubles neuropsychiatriques, une atrophie optique et une dégénérescence rétinienne.

L'évolution de ces pathologies est également très variable, pouvant conduire rapidement au décès ou être d'évolution lente avec des périodes de stabilité.

Aujourd'hui, quinze gènes sont connus pour être responsables de NBIA, avec des modes de transmission variés, principalement autosomiques récessifs, mais également autosomiques dominants et liés à l'X (*PANK2*, *PLA2G6*, *C19orf12*, *WDR45*, *FA2H*, *COASY*, *ATP13A2*, *DCAF17*, *FTL*, *CP*, *SCP2*, *GTPBP2*, *AP4M1*, *REPS1* et *CRAT*) (3).

Cependant, il existe de nombreux patients présentant des signes cliniques et radiologiques de NBIA, sans variant identifié dans ces quinze gènes. La proportion de ces patients varie d'une étude à l'autre, en raison des critères plus ou moins stricts des laboratoires pour réaliser l'analyse de ces gènes (4).

Cette thèse se décompose en deux parties. La première consiste en une revue de la littérature se voulant la plus exhaustive possible, incluant les différents projets de recherche en cours à l'échelle internationale. La deuxième partie a pour but de réaliser une description clinique, radiologique et génétique précise des patients atteints de NBIA, grâce à la série établie au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Bordeaux depuis plus de dix ans, et de dégager de nouvelles causes génétiques d'accumulation du fer, via un séquençage d'exome en trio chez des patients avec des caractéristiques de NBIA, sans variant identifié dans les gènes connus.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 Revue de la littérature

2.1.1 Sélection des articles

La stratégie de recherche bibliographique s'est basée sur la base de données PubMed. Les articles ont d'abord été sélectionnés par mots clés (NBIA, nom de chaque gène et de chaque maladie). Les articles hors sujets, les liens vers GeneReview présents dans PubMed et les articles en doublons ont été exclus. Un total de 1007 articles a été obtenu grâce à ces critères. La recherche bibliographique a inclus les articles référencés depuis 1974 jusqu'au 31 janvier 2021.

Une sélection plus précise a ensuite été réalisée, pour chaque sous type de NBIA, et également des revues plus générales sur les critères diagnostiques, d'imagerie et des articles de recherche portant sur des mécanismes physiopathologiques pouvant être communs aux différentes NBIA. Une attention particulière a été apportée lors de la sélection des articles au niveau de preuve de la publication, au journal éditeur, aux qualités intrinsèques de l'article (article de revue complet, *case report* présentant de nouvelles données, ...) et à la langue de publication (anglais ou français). Cent quatre-vingt-un articles ont été retenus à la suite de cette sélection.

2.1.2 Sélection des conférences

Les données présentées lors du 7^{ème} symposium international sur les NBIA et maladies apparentées ont également été utilisées dans cette thèse, tout d'abord pour identifier les équipes travaillant sur les NBIA, mais également pour la qualité des données présentées et leur caractère récent. Ce symposium a lieu de façon annuelle et s'est tenu en visioconférence en octobre 2020, réunissant plus de 160 participants de 26 pays.

2.2 Base de patients

2.2.1 Recueil des données des patients

Les patients inclus ont été adressés par des généticiens cliniciens, des neurologues ou des pédiatres au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Bordeaux, au Dr Fergelot, en charge du panel NBIA. Les renseignements cliniques ont été collectés grâce à une fiche de renseignements spécifiques (Figure 1). Cette fiche de renseignements, ainsi que le CD-Rom de l'IRM cérébrale du patient et le prélèvement sanguin ont été adressés au laboratoire de biologie moléculaire où l'ensemble du dossier a été validé afin de confirmer le diagnostic clinico-radiologique de NBIA. La réalisation du panel NBIA a ensuite été mise en œuvre une fois le dossier validé.

Fiche Individuelle de Renseignements
Recherche de mutation par NGS ciblé dans les gènes de neurodégénérescence avec accumulation intracérébrale de fer (NBIA)

Nom : Prénom : Date de naissance :/...../..... Sexe : F / M Date de la demande :

Nom et adresse du prescripteur :

Antécédents familiaux (arbre généalogique obligatoire)

- ◆ Déficit intellectuel oui / non / NSP
- ◆ Démence oui / non / NSP
- ◆ Tremblements oui / non / NSP
- ◆ Ataxie cérébelleuse oui / non / NSP
- ◆ Dystonie oui / non / NSP

○ Si oui, précisez l'âge de survenue des différents signes:

Antécédents personnels

- ◆ Age de début de la maladie oui / non / NSP
- ◆ Signes de début
 - Retard des acquisitions motrices oui / non / NSP
 - Déficit intellectuel oui / non / NSP
 - Déclin cognitif oui / non / NSP
 - Tremblement postural oui / non / NSP
 - Tremblement de repos oui / non / NSP
 - Tremblement mixte oui / non / NSP
 - Dysarthrie oui / non / NSP
 - Ataxie à la marche oui / non / NSP
 - Mouvements choréiques oui / non / NSP
 - Dystonie oui / non / NSP
 - Troubles psychiatriques oui / non / NSP

Examen clinique

- ◆ Examen neurologique
 - Réflexes Ostéo-Tendineux : normaux / vifs

- Vitamines liposolubles (ADEK)

- ◆ IRM cérébrale (fournir les clichés) :
 - Dépôts sur les noyaux gris centraux : oui / non / NSP
 - Dépôts dans la fosse postérieure : oui / non / NSP
 - Anomalies de la substance blanche : oui / non / NSP
 - Autres :

- Hypertonie pyramidale /spasticité oui / non / NSP
 - Signe de Babinski oui / non / NSP
 - Signe de Hoffmann oui / non / NSP
 - Hypertonie extrapyramidale oui / non / NSP
 - Akinésie oui / non / NSP
 - Syndrome cérébelleux statique oui / non / NSP
 - Syndrome cérébelleux cinétique oui / non / NSP
 - Dysarthrie cérébelleuse oui / non / NSP
 - Dystonie de la face oui / non / NSP
 - Dystonie des membres oui / non / NSP
 - Dystonie laryngée avec dysphonie oui / non / NSP
 - Myoclonies du palais oui / non / NSP
 - Déficit intellectuel oui / non / NSP
- Si QI connu précisez :
- Altération cognitive progressive oui / non / NSP
 - Si oui précisez :
 - Autres :

Examens complémentaires (fournir la copie des comptes-rendus)

- ◆ Biologie :
 - Fer sérique
 - Ferritinémie : (Normales =)
 - Coefficient de saturation de la Transferrine (Normales)
 - Céruloplasminémie :
 - Hémoglobine : (Normales =)
 - Cholestérolémie :

Gènes de NBIA analysés par NGS

ATP13A2, CP, DCAF17, FA2H, FTL, C19orf12, PANK2, PLA2G6, WDR45

Eléments à fournir :

- Arbre généalogique
- Copie des clichés d'IRM cérébrale+++ (prévoir des clichés en FLAIR, T2* et des clichés en diffusion)
- Consentement signé
- Ordonnance précisant le nom du gène si orientation ou « panel NBIA »
- 2 tubes EDTA de 5 ml ou 7 mL ou ADN
- Facturation : RIHN, N351, BHN5570

A envoyer à l'adresse suivante :
 Accueil de biologie centralisé (ABC) Tripode 2ème étage

A l'attention du Dr Patricia Fergelot
 Laboratoire de Génétique Moléculaire, PTBM

Hôpital Pellegrin,
 Place Amélie Raba-Léon 33076 Bordeaux Cedex

Figure 1 : feuille de renseignements cliniques et paracliniques réalisée par le laboratoire de biologie moléculaire bordelais

2.2.2 Recueil du consentement, déclarations légales

Chaque patient ou les titulaires de l'autorité parentale ont signé un consentement écrit, libre et éclairé, conformément aux lois françaises relatives à la prescription et réalisation d'exams des caractéristiques génétiques d'une personne (Art. R1131-4 – Code de la Santé Publique).

2.2.3 Constitution de la base de patients

Les patients ayant bénéficié du panel NBIA au CHU de Bordeaux ont été inclus dans ce travail de thèse. Les patients pour lesquels un diagnostic génétique a été posé à l'issue du panel NBIA ont vu les données de leur dossier extraites et analysées. Pour les patients sans diagnostic génétique à l'issue du panel NBIA, les prescripteurs ont été recontactés pour qu'ils puissent proposer à leurs patients une analyse d'exome en trio dans un cadre diagnostique. Pour les patients et leurs familles ayant accepté ce séquençage d'exome en trio, cette analyse a été réalisée. Les données cliniques et paracliniques des patients sans diagnostic génétique à l'issue du panel NBIA, ainsi que les résultats des séquençages d'exome sont présentés dans la partie « résultats » de cette thèse.

2.3 Analyses génétiques

2.3.1 Prélèvements

Les études moléculaires ont été réalisées sur l'ADN génomique des patients, extrait à partir des lymphocytes du sang périphérique après prise de sang sur tube EDTA selon les différentes techniques utilisées par l'ensemble des centres nous adressant des prélèvements.

2.3.2 Panel NBIA

Le panel NBIA est réalisé dans un cadre diagnostique depuis 2014 par le Dr Fergelot et le Pr Goizet au CHU de Bordeaux. Il y avait antérieurement à ce panel un séquençage des exons 3 et 4 du gène *FTL*, et de *PANK2* qui était réalisé via la méthode du séquençage Sanger.

La détection des variants est désormais réalisée par séquençage à haut débit. Cette méthode permet le séquençage simultané des 9 gènes inclus sur le panel NBIA bordelais (*ATP13A2*, *CP*, *DCAF17*, *FA2H*, *FTL*, *C19orf12*, *PANK2*, *PLA2G6* et *WDR45*).

Pour couvrir l'ensemble des exons des neuf gènes, la stratégie utilisée a été celle de la PCR AmpliSeq (technologie Ion Torrent™, Thermo Fischer Scientific).

Le séquençage est ensuite effectué sur les séquenceurs Ion PGM ou Ion S5™ XL, par réactions cycliques de séquençage avec obtention d'un signal électrique pour chaque variation de pH, permettant ainsi d'obtenir la séquence des fragments d'intérêt.

Le traitement bio-informatique des données est ensuite effectué grâce au logiciel Torrent Suite™ (Thermo Fischer Scientific) qui permet d'obtenir un fichier VCF (Variant Calling

Format). Chaque variant est annoté selon sa localisation génomique, sa nomenclature protéique, le type de variant, sa fréquence dans les bases de données à partir d'un fichier BAM aligné sur le génome de référence (version hg19). L'annotation est réalisée grâce au logiciel Alamut Batch.

En fonction du type de variant détecté, la pathogénicité peut être simple à déterminer (variant déjà rapporté dans la littérature, critères de pathogénicité forts, etc.) ou nécessiter différents logiciels de prédiction *in silico* quand la pathogénicité est plus difficile à établir. Les variants faux-sens sont ainsi classés en 5 catégories grâce aux bases de données (HGMD et dbSNP), et aux outils de prédiction *in silico* que sont SIFT, Polyphen et MutationTaster. Les variants d'épissage sont analysés sur MaxEnt Scan et Human Splicing Finder.

Les variants identifiés et considérés pathogènes sont validés par une seconde méthode de confirmation. La méthode de référence est le séquençage de type Sanger.

En fonction des données de séquençage haut débit, une puce *custom* peut être réalisée, via une méthode enzymatique Agilent.

2.3.3 Exome en trio pour les patients sans diagnostic moléculaire à l'issue du panel

2.3.3.1 Réalisation du séquençage d'exome en trio

Quatre patients ont été sélectionnés, ils présentaient des caractéristiques cliniques et radiologiques typiques de NBIA, qui sont décrites dans la partie résultats. Le panel NBIA du CHU de Bordeaux a été réalisé pour chacun d'entre eux et n'a pas permis de retrouver de variant expliquant leur phénotype.

Les prélèvements sanguins des parents de ces patients étaient également disponibles au laboratoire de biologie moléculaire, permettant de réaliser un séquençage d'exome en trio (patient + les deux parents).

L'ADN génomique a été extrait à partir des lymphocytes des patients, extraits de leur prise de sang veineux périphérique. Une fragmentation enzymatique de l'ADN a ensuite été réalisée grâce au kit KAPA HyperPlus.

Les bibliothèques d'ADN ont été préparées, amplifiées et purifiées en suivant les étapes du protocole KAPA HyperCap V3.0 avec les sondes KAPA HyperExome permettant de cibler l'exome. Le séquençage de l'exome s'est ensuite effectué sur le séquenceur Illumina NextSeq 550 Dx en mode RUO.

2.3.3.2 Pipeline bioinformatique

Le pipeline d'analyse a été construit par le laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Bordeaux. L'objectif d'un pipeline d'analyse est, à partir des données fournies grâce au séquençage, d'aboutir au diagnostic.

Le pipeline a permis de détecter des variants ponctuels (SNV, INDEL). Il n'y a pas eu de détection des variants structuraux (CNV) avec le pipeline réalisé.

Les grandes étapes du pipeline de détection sont regroupées sur la Figure 2:

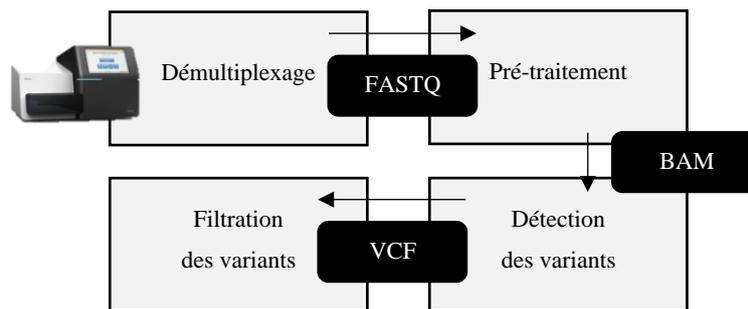


Figure 2 : étapes permettant d'obtenir les variants d'intérêt, en partant du séquençage d'exome en trio

Le démultiplexage est réalisé par la serveur adossé au séquenceur. Les données récupérées sont sous format FastQ. Le prétraitement consiste à « nettoyer » les données obtenues et à les aligner sur le génome de référence. Le contrôle qualité a lieu aux différentes étapes. Un contrôle qualité des fichiers FastQ a tout d'abord lieu pour contrôler la qualité des brins de lecture (ou *reads*). Un trimming est ensuite réalisé pour retirer les bases de mauvaises qualités. Un contrôle qualité est de nouveau réalisé après le trimming. Les reads sont ensuite alignés sur le génome de référence, dans sa version hg38. Un fichier BAM est alors obtenu. Les reads dupliquées, multialignés sont marqués puis supprimés par MarkDuplicates.

La détection des variants, ou appel de bases variantes a pour but de détecter les différences par rapport au génome de référence, et permet d'obtenir le fichier VCF.

Enfin, la dernière étape consiste en une filtration des variants. Cette étape permet, à partir du fichier VCF obtenu, d'annoter et de filtrer les variants. Les variants appelés, pour être retenus, doivent être couverts par plus de 5 reads, leur fraction allélique doit être supérieure à 20%, le score de qualité Phred doit être supérieur à 30. Chaque variant est ensuite annoté, avec entre autres sa zygocité, sa présence chez l'un ou l'autre ou les deux parents. Un filtre est réalisé sur sa fréquence dans GnomAD, son statut DM ou DM ? (*disease causing mutation ou likely disease causing mutation*) dans la base de données HGMD. Plusieurs fichiers sont générés, un fichier « *clinical exome* » qui regroupe les variants DM ou DM ? dans HGMD, un fichier

« *research exome* » avec l'ensemble des autres variants, ayant subis les autres filtres préalables. Les différentes étapes sont regroupées sur la Figure 3.

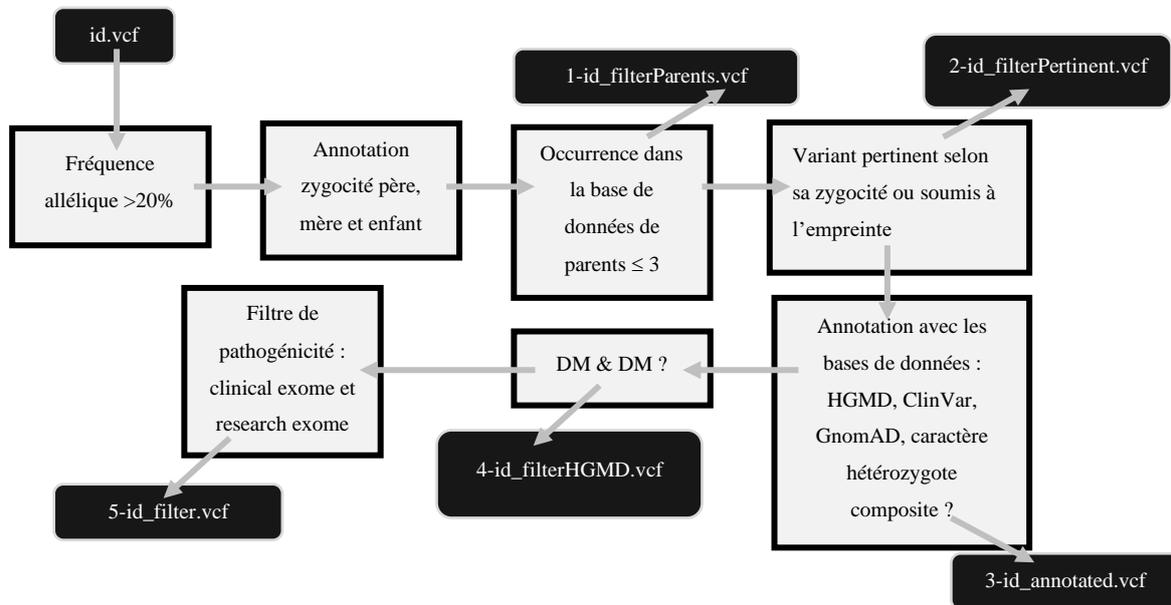


Figure 3 : pipe-line bioinformatique de filtration des variants à partir du fichier *id.vcf*

Les variants analysés étaient d'abord ceux de l'exome clinique, dans le fichier *5-id_filter.vcf*, puis si aucun variant d'intérêt n'était retrouvé, ceux de l'exome recherche du même fichier.

Dans un second temps, une analyse du fichier *3-id_annotated.vcf*, situé plus haut dans le pipeline était réalisée, avec les filtres suivants :

- 1) Recherche de variants dans les 15 gènes connus pour être responsables de NBIA, afin de ne pas méconnaître des variants qui auraient été filtré et seraient absents des fichiers *5-id_filter.vcf* (*AP4M1*, *ATP13A2*, *C19orf12*, *COASY*, *CP CRAT*, *DCAF17*, *FA2H*, *FTL*, *GTPBP2*, *PANK2*, *PLA2G6*, *REPS1*, *SCP2* et *WDR45*)
- 2) Recherche de variants dans les 7 gènes susceptibles d'être responsables de NBIA, et présents sur le panel NBIA recherche du laboratoire MRGM (Maladies Rares : Génétique et Métabolisme, Inserm U1211), panel construit par Christophe Hubert et le Dr Fergelot (*AP4B1*, *AP4E1*, *AP4S1*, *KMT2B*, *MANEAL*, *SQSTM1* et *TBCE*)
- 3) Analyse par approche gène candidat grâce à l'outil Endeavour. L'application Endeavour est une approche bioinformatique de priorisation des gènes sur la base de leur fonction biologique. Elle permet de déterminer si un gène candidat a un profil proche des gènes

déjà connus pour être responsable d'une pathologie d'intérêt, en se basant sur une intégration de différents paramètres, entre autres des données d'expression génique, d'annotation fonctionnelle, de littérature... Un score est attribué à chaque gène candidat, permettant de quantifier sa proximité avec les gènes déjà connus (5). L'ensemble des gènes retrouvés dans le fichier 5-id_filter.vcf a été trié grâce à cet outil, en les comparant aux 15 gènes de NBIA. Les gènes présentés dans les résultats sont ceux avec un score élevé (p-value < 0,01). Pour chaque gène candidat identifié grâce à cette application, les variants étaient recherchés dans le fichier 3-id_annotated.vcf, et analysés manuellement

- 4) Approche grâce à la base de données GTEX (*gene tissue expression*) (6). La base de données GTEX regroupe des données d'expression et de régulation génique dans 54 types de tissus différents, prélevés chez 1000 individus sains. Les gènes les plus exprimés dans les putamen, la substance noire, les noyaux caudés, le noyau accumbens et le cervelet ont été récupérés grâce à cette base (liste disponible en annexe), et les variants dans ces gènes ont ensuite isolés du fichier 3-id_annotated.vcf et analysés.

Les variants d'intérêt ont été analysés en réalisant tout d'abord une étude bibliographique de chaque gène (bases de données OMIM, PubMed et HGMD), puis du variant lui-même si le gène se révélait être un gène d'intérêt (logiciel Alamut, regroupant les logiciels de prédiction SIFT, MutationTaster, Polyphen-2, et les bases de données ClinVar, GnomAD, et dbSNP entre autres). La présence de chaque variant d'intérêt était ensuite confirmée en le recherchant dans le fichier BAM, afin d'éliminer les variants artéfactuels, ainsi que de connaître la fréquence allélique.

Les variants ont été classés selon les critères de l'*American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG). Si un variant était classé en « *likely pathogenic* » ou *pathogenic* », un séquençage par la méthode Sanger était réalisé afin de confirmer sa présence chez le patient grâce à une technique indépendante du NGS (*next generation sequencing*).

La Figure 4 récapitule les différentes étapes depuis le prélèvement du patient jusqu'au résultat complet du séquençage d'exome.

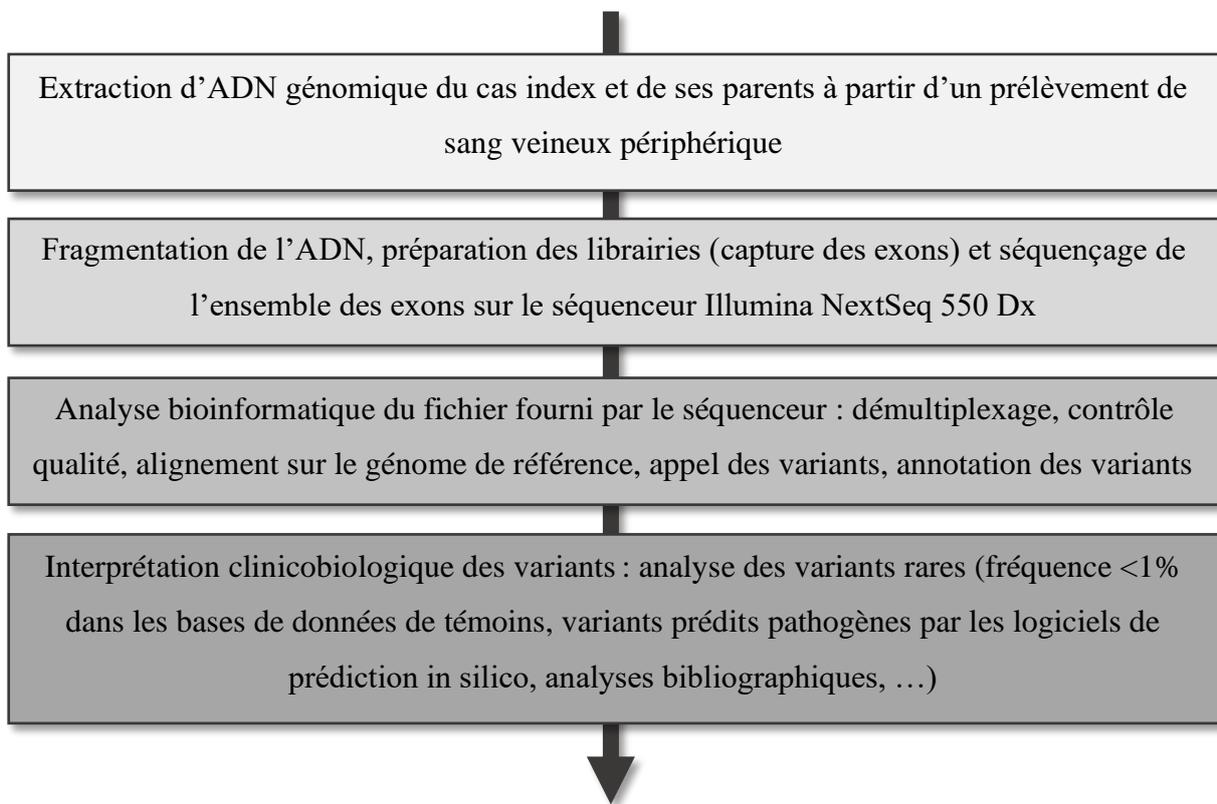


Figure 4 : Différentes étapes depuis l'arrivée du prélèvement du patient jusqu'à la production du résultat génétique

3 REVUE DE LA LITTERATURE

3.1 Histoire des NBIA

La première description de NBIA remonte à 1917, par James Ramsay Hunt, un médecin new-yorkais. Il rapporte, dans le journal *Brain*, quatre patients présentant une « *paralysis agitans* », qu'il décrit comme des mouvements involontaires, à type de tremblements, à la fois à l'action et au repos (7). Le premier cas qu'il décrit, WH, est un jeune homme new-yorkais, qui a développé à l'âge de 15 ans des tremblements, une raideur, une faiblesse du bras et de la jambe gauche suivis d'une dysarthrie et de troubles de la déglutition (Figure 5). Il était surnommé avant son hospitalisation « faux-visage » en raison du manque d'expression sur son visage. Il décède à l'âge de 40 ans.



Figure 5 : photographie du premier patient atteint de NBIA décrit dans la littérature

Il soutient que cette « *paralysis agitans* » est liée à une atrophie progressive du globus pallidus, en se basant sur les travaux de Cécile Vogt Mugnier (neuropathologiste française, qui a décrit « l'état marbré » du striatum) et de Samuel Wilson (neurologue britannique, ayant décrit la dégénérescence hépatolenticulaire ou maladie de Wilson).

Il réalise, avec ses confrères pathologistes de l'hôpital de Montefiore, une analyse anatomopathologique du cerveau de son patient WH. Ils ne mettent pas en évidence d'anomalies macroscopiques, mais retrouvent des pigments jaunes dans le globus pallidus, une réduction du nombre de cellules nerveuses, ainsi que des corps irréguliers devenant bleus après

coloration à l'hématoxyline (Figure 6). Ces données anatomopathologiques viennent donc soutenir sa théorie initiale: « *I therefore regard this affection as a progressive atrophy of the motor cells of globus pallidus mechanism, and this mechanism is the essential motor or projection system of the corpus striatum* ».

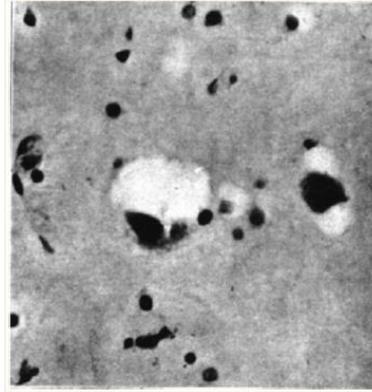


Figure 6 : coupe du globus pallidus du patient WH colorée à l'hématoxyline. Les ronds noirs correspondent au fer.

Quelques années plus tard, en 1922, Julius Hallervorden et Hugo Spatz rapportent une fratrie avec cinq sœurs présentant une coloration brune du globus pallidus.

Hallervorden et Spatz sont deux neuropathologistes allemands, ayant participé au programme nazi « Aktion T4 », ou campagne d'extermination d'adultes handicapés moteurs et/ou déficients intellectuels (8). Ce programme a fait environ 80000 morts entre 1939 et 1941. Les données cliniques puis anatomopathologiques rapportées proviennent des patients ayant été victimes de ce programme nazi. Hallervorden a participé de façon active à ce programme, en incitant les nazis à lui fournir le plus grand nombre de cerveaux possibles (« The more the better », étant la réponse qu'il fournissait quand on lui demandait combien de cerveaux lui étaient nécessaires). Spatz était quant à lui le directeur de l'institut où travaillait Hallervorden, le Kaiser Wilhelm Institute for Brain Research.

Le nom d'Hallervorden-Spatz a ensuite été utilisé jusqu'à très récemment pour nommer les différentes neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer, et plus particulièrement la NBIA de type 1, ou neurodégénérescence par déficit en pantothénate kinase. Hallervorden et Spatz sont respectivement décédés en 1969 et 1965, sans être inquiétés de leurs activités durant la période nazis. Il a fallu attendre les années 90 pour que plusieurs médecins soulèvent la question des maladies éponymes, notamment le généticien anglais Peter Harper, ainsi que le neuropédiatre canadien Michael Shevell, en prenant l'exemple du syndrome d'Hallervorden-Spatz (9,10).

3.2 Critères diagnostiques

Ce chapitre se veut construit comme une marche à suivre orientant la démarche diagnostique pour un patient suspect de présenter une NBIA. Les différents types de NBIA sont détaillés dans la partie suivante. La marche à suivre devant un patient présentant des symptômes évoquant une NBIA est tout d'abord clinique, avec un interrogatoire et un examen clinique rigoureux, puis les examens orientés sont prescrits, comprenant de façon systématique une IRM cérébrale et un bilan biologique, au minimum, et enfin l'analyse génétique est réalisée, à la lumière des différentes informations recueillies lors des étapes précédentes.

3.2.1 Clinique

Les NBIA constituent un groupe hétérogène de maladies, caractérisées cliniquement par un syndrome extrapyramidal progressif et un dépôt excessif de fer dans le cerveau, qui touche principalement les noyaux gris centraux (le globus pallidus en particulier). Les NBIA font partie des hypothèses diagnostiques importantes pour les retards psychomoteurs, et surtout les régressions psychomotrices chez l'enfant, les syndromes extrapyramidaux survenant à tout âge et les dystonies, cervico-faciales isolées ou associées à un syndrome extrapyramidal.

Quand le patient arrive à la consultation, que ce soit dans un cadre pédiatrique ou neurologique adulte, il est tout d'abord crucial de retracer l'histoire de la maladie, en essayant de déterminer les premiers symptômes et leur âge de survenue, des éventuels retards dans le développement psychomoteur.

Les autres éléments clés pour le diagnostic sont la recherche d'une rétinite pigmentaire, d'une atrophie optique, d'une neuropathie périphérique, de convulsions, de troubles cognitifs, d'anomalies endocriniennes. Certains de ces éléments nécessitent des examens biologiques et paracliniques adéquats afin d'être mis en évidence.

L'IRM est en général l'examen clé, qui met sur la piste diagnostique.

En pratique, le bilan biologique doit comprendre : une numération formule sanguine avec recherche d'acanthocytes, un dosage du cuivre sérique et urinaire, une céruléoplasminémie, une ferritinémie, un dosage du fer sérique, une ferritinémie, un bilan phosphocalcique et une glycémie à jeun, au minimum. L'électromyogramme permet de caractériser une neuropathie suspectée à l'examen clinique (peut orienter vers le PLAN, ou le MPAN). Des analyses somnographiques peuvent rechercher des apnées du sommeil, ou un REM-sleep-disorder, ou trouble de la phase paradoxale du sommeil, orientant vers le BPAN. Un électroencéphalogramme est également utile quand des crises convulsives sont suspectées, notamment dans le PLAN, le FAHN, le BPAN et le syndrome de Woodhouse-Sakati.

3.2.2 Imagerie

La qualité des imageries cérébrales réalisées, en particulier la puissance du champ magnétique des IRM et l'épaisseur des coupes, permet d'identifier avec précision les dépôts pathologiques de fer dans le cerveau.

Le fer apparaît isointense en séquence T1 et hypointense en T2, de même que le calcium. Cependant les tomodensitométries permettent de différencier le calcium du fer, le premier apparaissant hyperdense et le deuxième isodense.

Les séquences IRM sensibles au fer, telles que le SWI (*susceptibility weighted images*), et l'écho de gradient comme le T2*, doivent être les séquences réalisées pour permettre de poser le diagnostic de NBIA (11). La surcharge en fer peut être quantifiée grâce au T2* mapping et aux séquences quantitatives QSM (*quantitative susceptibility mapping*).

Ces séquences montrent des dépôts de fer relativement symétriques dans les globi pallidi pour quasiment l'ensemble des NBIA. Les autres noyaux gris centraux sont touchés de façon variable, avec une prédominance pour la substance noire, le noyau rouge, le noyau dentelé et le striatum (Figure 7 reprenant les différents noyaux gris centraux (12)). Une atrophie cérébelleuse, cérébrale, du corps calleux et des changements de signal de la substance blanche peuvent être associés, et s'aggravent au fur et à mesure de l'évolution de la maladie.

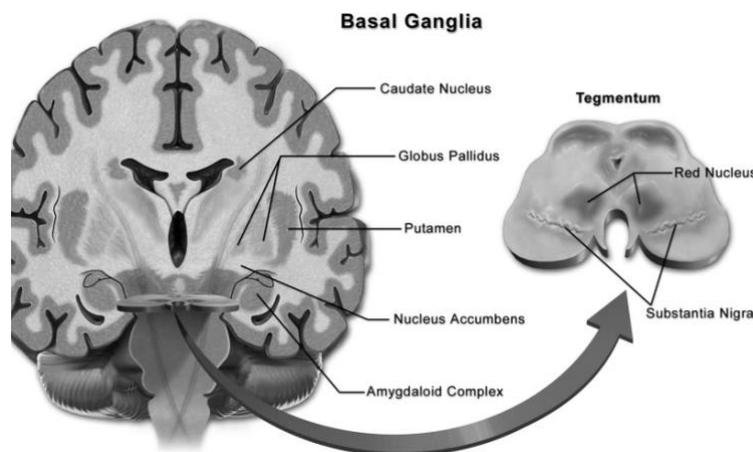


Figure 7 : représentation schématique (coupe coronale et axiale) des différents noyaux gris centraux

Les séquences « plus classiques » telles que T1, T2 et FLAIR gardent toute leur place. Les séquences T2 et FLAIR permettent d'évaluer les changements de la substance blanche, la gliose, la cavitation. Les séquences T1 permettent de visualiser l'anatomie cérébrale et donc l'atrophie. Les séquences T1 permettent également de visualiser les dépôts métalliques (cuivre, fer, qui se lient à la neuromélanine et forment des complexes paramagnétiques hyperintenses en T1) (13). Les spécificités de l'imagerie pour chaque sous type de NBIA sont détaillées dans le chapitre suivant.

3.2.3 Génétique

À ce jour, 15 gènes sont associés aux différents sous types de NBIA (*PANK2*, *COASY*, *PLA2G6*, *C19orf12*, *FA2H*, *WDR45*, *ATP13A2*, *FTL*, *CP*, *DCAF17*, *SCP2*, *GTPBP2*, *REPS1*, *CRAT* et *AP4M1*) (3).

Cependant, de nombreux patients présentant des symptômes cliniques et radiologiques de NBIA ne présentent pas de variants pathogènes dans les gènes sus-cités. Les chiffres sont variables en fonction des études, allant de 20% à un peu plus de 50% (14,15).

La fonction des gènes dans l'accumulation intracérébrale de fer est également surprenante au premier abord, car seuls deux gènes sont directement impliqués dans le métabolisme du fer, *FTL* (codant pour la chaîne légère de la ferritine) et *CP* (gène de la céruléoplasmine). La Figure 8 regroupe les rôles connus ou supposés des différents gènes impliqués dans les NBIA. La fonction de chaque gène est ensuite détaillée dans chaque sous partie correspondante, dans la partie « sous types de NBIA ».

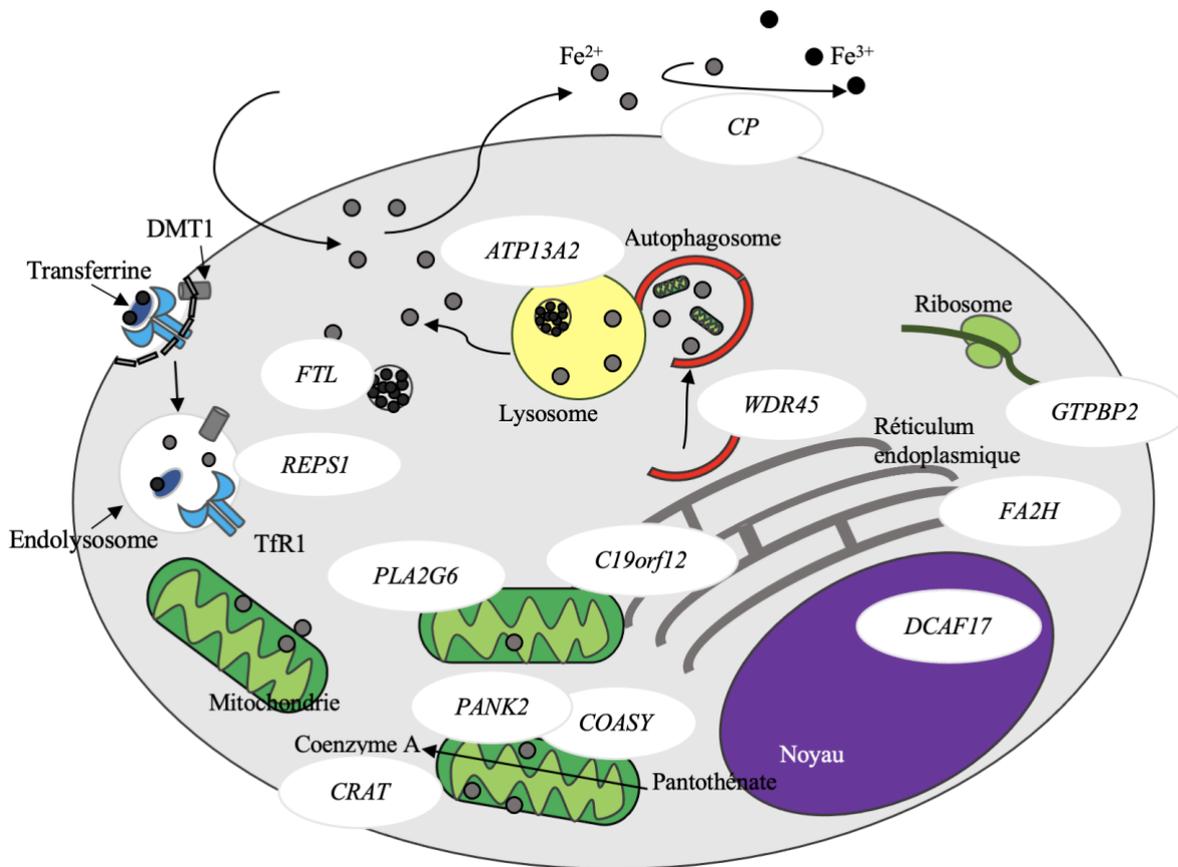


Figure 8 : Représentation schématique du rôle des gènes impliqués dans les NBIA à l'échelle d'une cellule

Il y a actuellement plusieurs façons de faire le diagnostic génétique de NBIA en France :

- La première consiste à réaliser un panel de gènes de NBIA
 - Bordeaux : *PANK2, PLA2G6, WDR45, FTL, C19orf12, FA2H, CP, DCAF17, ATP13A2*
 - Lille: *PANK2, PLA2G6, WDR45, FTL, C19orf12, FA2H, CP, DCAF17, ATP13A2, COASY, SCP2*
- Plusieurs panels de gènes ciblant les mouvements anormaux, ou la déficience intellectuelle, comprennent des gènes de NBIA
- Des examens pangénomiques (séquençage d'exome ou de génome) permettent également de retrouver des variants dans des gènes de NBIA.

3.2.4 Proposition d'une conduite à tenir diagnostique

La conduite à tenir diagnostique sur le plan génétique, pour un patient présentant des signes cliniques et d'imagerie pouvant faire évoquer une NBIA est la suivante, à la lumière des analyses disponibles en France en 2021.

Avec le plan France Médecine Génomique 2025, les critères permettant d'accéder à un séquençage à très haut débit ont été fixés par des médecins experts et est disponible sur le site aviesan.fr.

Les premiers critères fixés pour suspecter une NBIA reprennent les éléments détaillés plus haut, à savoir un examen clinique et une enquête familiale évocatrice, et une IRM cérébrale avec des clichés T2* ou écho de gradient, avec des dépôts de fer dans les noyaux gris centraux. Le bilan paraclinique doit comporter un dosage de la ferritine, une recherche d'acanthocytes, un bilan du cuivre et un bilan phosphocalcique.

Pour l'ensemble de ces patients, quelle que soit l'histoire familiale, le panel NBIA est recommandé en première intention, avec d'accéder au séquençage à très haut débit (exome ou génome) si le panel se révèle négatif. Il a été décidé, au vu de la faible rentabilité, de ne pas proposer de séquençage à très haut débit pour les patients avec une suspicion de NBIA ayant débuté après 60 ans. Le séquençage à très haut débit est accessible après une réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) avec des médecins experts validant l'indication. Les médecins experts en RCP peuvent demander un complément de bilan en fonction du dossier du patient, par exemple un examen ophtalmologique, une audiométrie, un électromyogramme, une mesure de la glycémie et un bilan hormonal à la recherche d'un hypogonadisme. Le scanner

cérébral peut également être demandé en complément si un doute sur des dépôts calciques est présent.

Pour la réalisation du séquençage à très haut débit, il faut disposer au minimum du prélèvement du cas index associé au prélèvement d'un autre membre de la famille atteint si c'est le cas, et/ou d'un apparenté sain au minimum, de préférence les parents. Les prélèvements en solo, c'est-à-dire avec seulement le cas index, sont autorisés de façon exceptionnelle, si la maladie a débuté avant 20 ans, et/ou si le cadre familial permet de suspecter fortement une cause génétique (plus de 2 atteints dans la famille, consanguinité). La Figure 9 résume la marche à suivre pour le diagnostic et l'accès au séquençage à très haut débit.

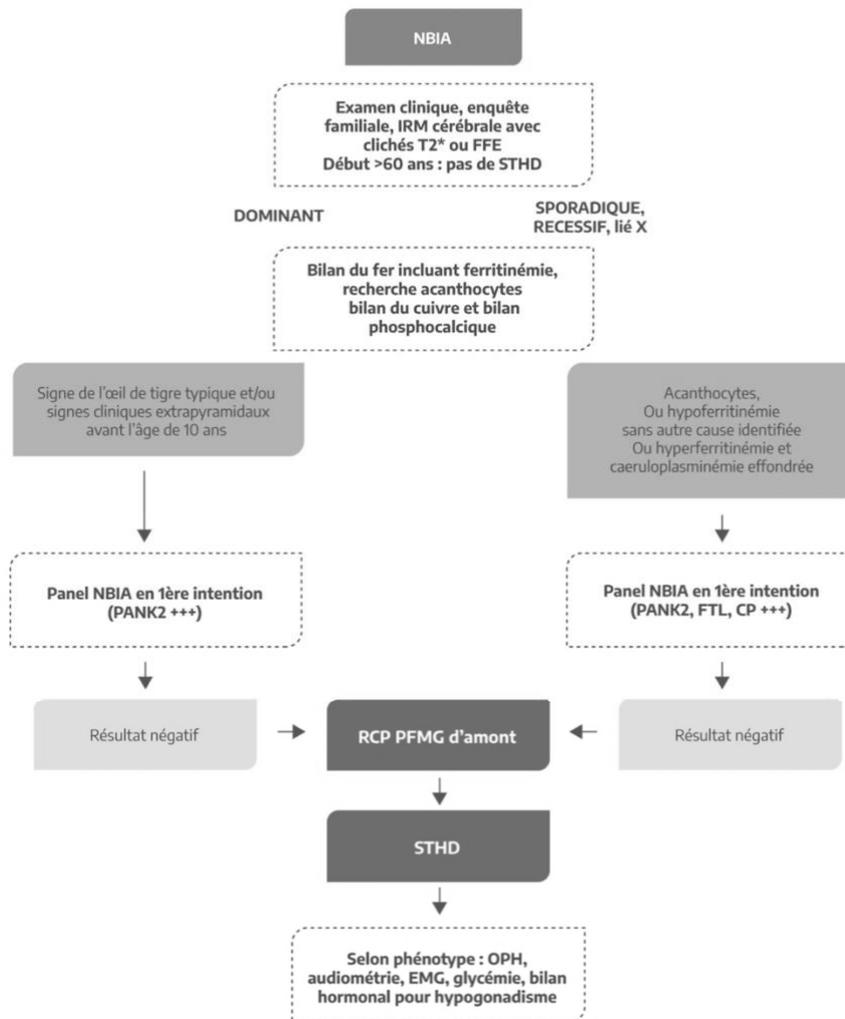


Figure 9 : résumé des étapes diagnostiques et des critères pour bénéficier d'une analyse génétique par séquençage à très haut débit

3.2.5 Prise en charge commune

La prise en charge des patients atteints de NBIA est globale et multidisciplinaire. Elle repose sur une coopération entre les différents acteurs du soin, et est coordonnée si possible par l'un des médecins du centre de référence ou de compétence dans lequel le patient est suivi ainsi que le médecin traitant.

Il n'y a pas de traitement curatif de ces maladies mais des traitements symptomatiques sont disponibles. La prise en charge des patients repose sur des traitements pharmacologiques, rééducatifs et sur la mise en place d'un cadre médicosocial approprié. L'objectif de cette prise en charge, pluridisciplinaire, est de préserver le plus longtemps possible l'autonomie du patient, la qualité de vie, l'harmonie familiale et les ressources financières.

Les prises en charge ont été divisées en fonction du symptôme et du cadre de prise en charge dans cette partie.

3.2.5.1 *Symptômes moteurs*

3.2.5.1.1 La dystonie

Le retentissement fonctionnel de la dystonie peut être important sur les actes de la vie quotidienne (troubles de la mastication et de la déglutition pour les dystonies de la face ; déformations articulaires au niveau des membres lorsqu'une hypertonie est associée, dystonie axiale rendant la position assise et la marche complexes). Une prise en charge en kinésithérapie active et passive est recommandée à tous les stades d'évolution de la maladie, afin de maintenir les amplitudes articulaires, de limiter les déformations et de prévenir l'apparition de rétractions tendineuses.

L'indication de toxine botulique en cas de dystonie focale (par exemple dystonie cervicale, flessum de genou, position du pied en équin, dystonie de la mâchoire) doit être posée par un expert dans la prise en charge des mouvements anormaux.

La stimulation cérébrale profonde peut également être utilisée dans le traitement de la dystonie, après avoir tenté les traitements nommés ci-dessus.

L'utilisation de matériels adaptés, en particulier de fauteuils sur mesure, peut permettre une installation optimisée.

3.2.5.1.2 La chorée

Les mouvements choréiques sont des mouvements anormaux, involontaires, brusques, explosifs, imprévisibles, irréguliers et de courte durée.

Le syndrome choréique doit faire envisager une prise en charge médicamenteuse en cas de gêne ou d'inconfort du patient. La tétrabénazine a montré un effet bénéfique sur les mouvements choréiques. Les neuroleptiques atypiques constituent le premier choix de traitement lorsque le patient présente en plus de la chorée, des troubles du caractère, du comportement, une dépression active ou des troubles psychotiques. Ils n'ont cependant pas d'AMM pour l'indication « mouvements choréiques ».

3.2.5.1.3 La rigidité

La lévodopa peut permettre d'améliorer les symptômes akinétorigides. Le traitement par lévodopa doit être débuté progressivement. La réponse est en général variable en fonction du type de NBIA (en général mauvaise chez les patients atteints de PKAN, et bonne chez les patients atteints de PLAN, MPAN, BPAN, Kufor Rakeb). Il existe souvent dans un second temps l'apparition de dyskinésies. Les agonistes dopaminergiques sont peu utilisés pour traiter les syndromes extrapyramidaux, en raison du risque d'aggravation des troubles neuropsychiatriques.

Une prise en charge rééducative (kinésithérapie, ergothérapie, psychomotricité et relaxation) est également importante dans le traitement de la rigidité.

3.2.5.1.4 Les troubles de la déglutition

Les troubles de la déglutition peuvent être d'origines variées chez les patients atteints de NBIA, il est nécessaire de les évaluer et de les prévenir précocement. Leur prise en charge repose sur la rééducation orthophonique qui doit associer : des conseils de posture et d'installation lors des repas, des conseils de texture des aliments, le travail des praxies et l'éviction des distractions lors du repas.

Les troubles de la déglutition sévères peuvent faire discuter le recours à une gastrostomie. L'alimentation par la gastrostomie n'exclut pas la possibilité d'une alimentation orale associée.

3.2.5.1.5 Les troubles de la marche et de l'équilibre

Les troubles de la marche et de l'équilibre sont en général d'apparition progressive. Leur prise en charge repose sur des mesures rééducatives (kinésithérapie et psychomotricité). La

prescription d'aides techniques adaptées (relater, canne, fauteuil roulant) et/ou de protections doit être envisagée pour réduire le risque et les complications des chutes.

L'ergothérapeute est un interlocuteur privilégié pour aider au choix des aides techniques, et le kinésithérapeute quant à lui optimise l'utilisation des aides en les intégrant lors des entraînements.

3.2.5.2 Déficit intellectuel, troubles cognitifs et psychiatriques

3.2.5.2.1 Déficit intellectuel

Le repérage d'un retard dans les acquisitions psychomotrices doit amener le médecin de l'enfant à proposer une prise en charge précoce auprès du professionnel adapté (ex : orthophoniste pour les retards de langage ; psychomotricien pour les retards psychomoteurs globaux...). Il s'agit principalement des formes précoces de NBIA.

La mise en évidence de difficultés dans les apprentissages doit conduire à proposer des rééducations ciblées à partir des données du bilan neuropsychologique.

Les enfants de moins de 6 ans peuvent être orientés vers un CAMSP, qui organisera les séances de kinésithérapie, et de psychomotricité entre autres. Un accompagnement pédopsychiatrique peut être proposé au CMP (Centre Médico-Psychologique) du secteur. Vers 5 ans, un bilan neuropsychologique et psychométrique est souhaitable, avant l'entrée en école primaire, pour évaluer les prérequis aux apprentissages scolaires, ajuster l'orientation et demander éventuellement une aide humaine (auxiliaire de vie scolaire (AVS)).

Une évaluation dans un Centre de Ressource Autisme (CRA) peut être indiquée si les troubles de la communication sont présents. Le diagnostic d'autisme repose sur des batteries de tests spécifiques. Le recours aux méthodes de communication facilitée (PECS, Makaton...) doit être mis en œuvre avec l'orthophoniste en cas de retard de langage persistant après 3 ans.

3.2.5.2.2 Troubles cognitifs

Les symptômes de régression cognitive, ou de démence peuvent se manifester à tout âge. Dans les âges pédiatriques, la prise en charge est similaire à celle d'un enfant présentant un déficit intellectuel.

Pour les troubles cognitifs évolutifs de l'adulte, il n'existe pas de prise en charge spécifique, la prise en charge doit être adaptée à chaque patient et à l'évolution de sa maladie. Dans les stades précoces, la dépression peut être fréquente. On peut proposer une psychothérapie de soutien, un antidépresseur peut être donné. Il n'y a pas d'étude ni d'AMM concernant l'utilisation de

traitements anticholinestérasiques ou de la mémantine pour les troubles cognitifs dans les NBIA.

3.2.5.2.3 Troubles psychiatriques

3.2.5.2.3.1 La dépression

Il convient de se méfier de la sévérité d'un syndrome dépressif en particulier au début de la maladie ou au moment de l'apparition de symptômes ayant un impact négatif sur la vie quotidienne. Cependant les syndromes dépressifs peuvent apparaître tout au long de l'évolution de la maladie.

Un antidépresseur doit être proposé au patient, son choix repose sur les interactions médicamenteuses éventuelles et la tolérance. Il est recommandé d'utiliser un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS) ou un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN) en première intention. La prise en charge psychologique fait également partie du traitement de la dépression, elle est recommandée lorsque les patients peuvent y adhérer.

3.2.5.2.3.2 L'anxiété

La prise en charge de l'anxiété repose sur la recherche de facteurs déclenchants et sur des mesures d'apaisement et de réassurance. Une prise en charge psychologique est souvent nécessaire. Quand cette prise en charge est insuffisante pour soulager ces symptômes, la prescription ponctuelle d'un anxiolytique peut se discuter (principalement pour les situations aiguës ou subaiguës d'anxiété, afin d'éviter une pharmacodépendance), ou d'un traitement antidépresseur type ISRS ou IRSN.

3.2.5.2.3.3 L'agitation

L'agitation peut être liée à une cause somatique (douleur ou inconfort chez un patient en incapacité de le verbaliser) ou une cause psychiatrique (anxiété, irritabilité, hallucinations, etc...).

Il faut rechercher en priorité un facteur déclenchant somatique (globe vésical, fécalome, douleur...) afin de le traiter. En cas d'agitation associée à un trouble anxieux, une benzodiazépine peut être prescrite de façon ponctuelle. Les agitations sévères / persistantes peuvent nécessiter la prescription d'un neuroleptique, il faut dans ce cas privilégier les neuroleptiques de seconde génération.

3.2.5.2.4 Troubles du sommeil

Les troubles du sommeil sont fréquents et peuvent être de différents types : insomnie, somnolence diurne, décalage de phase. Les étiologies sont variées : dépression, anxiété, mouvements involontaires à l'endormissement ou survenant au cours du sommeil et provoquant des réveils.

Les mesures hygiéno-diététiques constituent le premier traitement. Il faut essayer de se coucher et de se lever à heure fixe, d'arrêter les excitants le soir, et de réaliser des siestes courtes. Il faut rechercher et traiter une éventuelle dépression ou anxiété sous-jacente. En cas d'inefficacité des règles hygiéno-diététiques, un hypnotique peut être prescrit, en recherchant la dose minimale efficace et la durée de prescription la plus courte possible. La mélatonine en préparation magistrale peut également être utile.

3.2.5.3 Pathologies somatiques

3.2.5.3.1 Douleur

Chez les patients atteints de NBIA, l'évaluation de la douleur est parfois difficile en raison des troubles de la communication, la plainte douloureuse pouvant alors s'exprimer par une modification du comportement ou une exacerbation des mouvements anormaux.

Le traitement de la douleur repose sur la recherche et le traitement de son étiologie associé si besoin à l'utilisation d'antalgiques selon les recommandations de l'OMS.

3.2.5.3.2 Pathologies dentaires

L'état buccodentaire peut être fragilisé par les troubles du mouvement, la prise de médicaments agissant sur la sécrétion salivaire et la fréquence des traumatismes dentaires. Les troubles du mouvement peuvent également rendre difficiles les soins dentaires, qui peuvent être réalisés sous sédation légère ou sous anesthésie générale en milieu hospitalier.

Le suivi buccodentaire doit être régulier, avec un détartrage annuel. En cas de traumatismes récurrents par morsure, on peut proposer la prescription gouttières protectrices.

3.2.5.3.3 État nutritionnel et troubles digestifs

Le suivi de l'état nutritionnel des patients est primordial. La douleur, comme les nombreuses difficultés alimentaires ou digestives potentielles, peut provoquer un refus alimentaire chez une personne qui déjà présente souvent un état nutritionnel précaire. Les mouvements anormaux accroissent également la dépense énergétique, augmentant le risque de dénutrition. Devant un

risque de dénutrition, une stratégie d'aide nutritionnelle doit être proposée, en commençant par un enrichissement de l'alimentation. Les compléments nutritionnels oraux peuvent également être d'une grande aide, ainsi qu'une consultation avec un diététicien. En cas de besoin, la pose d'une gastrostomie compensera par une alimentation entérale l'insuffisance des apports oraux. Les troubles digestifs sont également fréquents chez les patients atteints de NBIA, tels que des épisodes diarrhéiques, une constipation ou des vomissements. Ces symptômes, en particulier lorsqu'ils se manifestent sur un mode aigu, doivent toujours faire rechercher une cause digestive à traiter. En l'absence d'étiologie digestive retrouvée, et si les symptômes deviennent chroniques, les étiologies suivantes peuvent être évoquées :

- Constipation liée à la sédentarité, à une dysautonomie, à certains traitements pharmacologiques (neuroleptiques, antidépresseurs).
- Diarrhées ou alternance de diarrhées et de constipation souvent d'origine dysautonomique (après s'être assuré de l'absence de fécalome).
- Vomissements liés aux mouvements anormaux, aux troubles de la déglutition, à certains traitements pharmacologiques, à une possible gastroparésie.

Les traitements sont principalement symptomatiques, accompagnés de mesures hygiéno-diététiques (fractionnement des repas pour les vomissements par exemple, ainsi qu'adaptation de la posture au cours du repas).

Il faut garder à l'esprit que la présence d'un fécalome peut être responsable de diarrhées (« fausses diarrhées ») et/ou de vomissements, ce qui explique que le traitement d'un fécalome ainsi qu'une prévention efficace de la constipation puisse parfois résoudre des épisodes récurrents de diarrhées et/ou de vomissements.

3.2.5.3.4 Hypersialorrhée

L'hypersialorrhée est définie comme une sécrétion salivaire excessive. Elle peut être provoquée par une mauvaise occlusion buccale, ou un défaut de déglutition et augmente le risque de fausse route liée à un défaut de déglutition de la salive.

Des mesures médicamenteuses peuvent être envisagées pour réduire la sécrétion salivaire : la scopolamine percutanée, l'atropine per os ou d'autres médicaments avec un effet anticholinergique (amitriptyline) en se prenant garde au risque iatrogène, en particulier au syndrome confusionnel, à la constipation et à la rétention aiguë d'urine. Des injections de toxine botulique dans les glandes salivaires peuvent être envisagées en cas d'inefficacité des mesures ci-dessus.

3.2.5.4 Retentissement personnel et familial, aides sociales

Un soutien psychologique du patient et de sa famille peut être proposé au moment de l'annonce du diagnostic ou lors du suivi. L'impact des symptômes moteurs, des troubles de l'apprentissage et/ou de la concentration, du caractère génétique et transmissible à la descendance, et de l'imprévisibilité de l'évolution peuvent être générateurs de souffrance psychique. Elle est souvent peu exprimée par les patients ou leur entourage, il est important de rechercher lors de chaque consultation des signes de souffrance psychique et de proposer un suivi si tel est le cas.

Les centres de référence et de compétence ont une mission d'information sur les maladies rares prises en charge dans leurs centres, en partenariat avec les associations de malades. La présentation objective de données médicales récentes peut permettre d'atténuer la connotation péjorative attachée à une histoire familiale douloureuse ou à la lecture d'informations obsolètes, partielles ou alarmistes disponibles sur Internet.

Ces centres ont également une mission de conseil génétique, et précisent à la famille du patient les membres à risque ainsi que le risque de récurrence en cas de mise en route d'une nouvelle grossesse. Les NBIA peuvent faire l'objet, après validation par le Comité Pluridisciplinaire de Diagnostic Prénatal, d'un diagnostic prénatal ou préimplantatoire s'il existe un risque de transmission. Pour les adultes apparentés, étant à risque de NBIA, ils peuvent solliciter une consultation de diagnostic présymptomatique, qui est une consultation pluridisciplinaire spécialisée, dont les modalités de fonctionnement sont déclarées auprès de l'Agence de la Biomédecine dans le respect des règles du Code de la Santé Publique (articles L1131-1 à L1131-3 et R1131-5). Les NBIA étant à l'heure actuelle des maladies incurables et sans moyen de prévention au moment du diagnostic, il n'est pas possible de réaliser de diagnostic présymptomatique chez l'enfant mineur à risque (article R145-15-5 du code de la santé publique).

3.2.5.5 Aides sociales

Une prise en charge sociale peut être proposée au patient et à sa famille afin de les conseiller, de les orienter et de les accompagner dans les différents domaines d'intervention sociale : le handicap, la régularisation des droits, la précarité, l'insertion professionnelle, le maintien au domicile, la scolarité...

Une prise en charge des soins en ALD (affection de longue durée) peut être demandée par le médecin référent ou le médecin traitant. Grâce à l'ALD, les soins et traitements en rapport avec l'affection sont pris en charge à 100% après validation par le médecin conseil de l'Assurance Maladie.

Un dossier spécifique de demande d'aides sociales peut également être réalisé, et sera complété par le patient/ sa famille puis le médecin traitant et les médecins spécialistes en charge du patient, et sera à retourner à la Maison Départementale des Personnes Handicapées (MDPH). Plusieurs prestations peuvent être sollicitées, le détail des démarches est accessible sur le site dédié au handicap du gouvernement (handicap.gouv.fr) :

- L'allocation aux adultes handicapés (AAH), qui est une allocation de solidarité destinée à assurer aux personnes handicapées un minimum de ressources. La majoration pour la vie autonome peut venir s'ajouter à l'AAH.
- L'allocation d'éducation de l'enfant handicapé est une prestation familiale versée par les caisses d'allocations familiales. Cette allocation a pour but d'aider les familles à faire face aux frais supplémentaires qu'entraîne le handicap d'un enfant à charge de moins de 20 ans.
- La carte mobilité inclusion peut également être sollicitée. En fonction de la situation et des besoins de la personne, cette carte peut porter une ou plusieurs des mentions suivantes : « invalidité », « priorité pour personnes handicapées » et « stationnement pour personnes handicapées ». L'adaptation du véhicule et aides aux transports peut également être sollicitée, le financement provient de l'association de gestion des fonds pour l'insertion professionnelle des personnes handicapées, qui peut aider à l'achat d'un véhicule adapté.
- La prestation de compensation du handicap s'adresse à toute personne handicapée et a pour but de venir prendre en charge les dépenses correspondant à des besoins de compensation au regard du projet de vie du patient.
- Les salariés qui se trouvent dans l'incapacité totale ou partielle de travailler peuvent prétendre à une pension d'invalidité. A partir de l'âge légal de la retraite (62 ans), elle est remplacée, lorsque le titulaire n'exerce pas d'activité professionnelle, par une pension de vieillesse.

- L'allocation journalière du proche aidant permet d'indemniser à hauteur de 66 jours le congé de proche aidant
- Pour les enfants atteints de NBIA nécessitant une adaptation scolaire, les demandes d'aménagement passent également par la MDPH, avec notamment la demande de temps additionnel pour les examens, et/ ou l'utilisation d'outils informatiques

3.2.5.6 Associations de patients

Un cadre associatif dédié est souvent utile, en particulier pour aider certains malades ou aidants à sortir de leur isolement. Les patients et leur famille doivent être informés de l'existence d'associations de patients par le centre de référence ou les centres de compétence, qui peuvent transmettre leurs coordonnées. Ces associations contribuent à une meilleure prise en charge globale de la maladie en favorisant la coopération entre les patients et les soignants.

Les associations françaises sont Autour du BPAN, AIDNAI, et BPAN France. De nombreuses actions sont réalisées chaque année pour promouvoir les liens entre familles et chercheurs.

3.3 Sous types de NBIA : description clinique, paraclinique, thérapeutiques et perspectives

3.3.1 Répartition des sous types de NBIA

Quatre types de NBIA prédominent, comme le montre la Figure 10 réalisée à partir de l'article d'Hogarth *et al.*, réalisée à partir d'une base de données de patients nord-américains : la neurodégénérescence par déficit en pantothénate kinase (PKAN), la neurodégénérescence associée à la phospholipase A2 (PLAN), la neurodégénérescence associée à la protéine de membrane mitochondriale (MPAN), et la neurodégénérescence associée à une protéine bêta-propeller (BPAN). Cette répartition peut légèrement varier en fonction des séries, notamment sur les plus récentes, avec une augmentation de la part de patients atteints de BPAN (1).

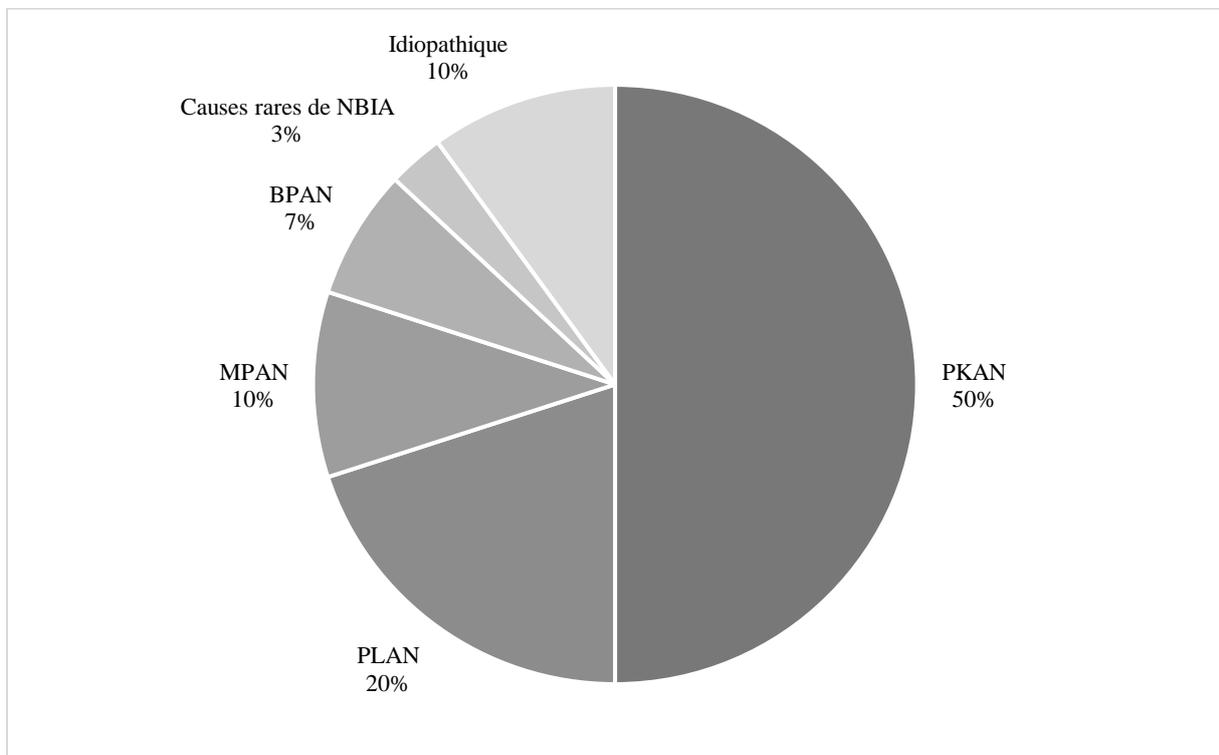


Figure 10 : pourcentage des types de NBIA dans la population nord-américaine

3.3.2 Neurodégénérescence par déficit en pantothénate kinase (OMIM #606157)

3.3.2.1 Généralités

La plupart des cas rapportés dans la littérature au milieu du vingtième siècle comme "maladie de Hallervorden-Spatz" étaient probablement des PKAN (8), mais comprenaient presque certainement d'autres formes de NBIA.

La découverte du gène *PANK2* date de 2001, a été faite par l'équipe de Susan Hayflick à Portland (16).

La découverte de ce gène a permis d'établir une convention d'appellation pour les NBIA, et a surtout été un accélérateur pour abandonner l'éponyme d'Hallervorden et Spatz (17).

Le PKAN représente la forme la plus répandue de NBIA, représentant environ la moitié des patients des différentes cohortes.

3.3.2.2 Clinique

Les neurodégénérescences par déficit en pantothénate kinase ont traditionnellement été divisées en une forme "classique", à apparition précoce et à progression rapide, et en une forme "atypique", de début plus tardif et à progression plus lente, bien qu'il existe des formes frontières (18).

Dans le PKAN classique, la maladie survient avant l'âge de six ans, avec comme symptôme initial un trouble de la marche associé à des chutes, souvent sur fond de retard de développement modéré.

L'examen clinique met en évidence des attitudes dystoniques, principalement aux membres inférieurs, avec une accentuation à la marche. Une spasticité est également présente, avec un signe de Babinsky fréquemment retrouvé. Les premiers symptômes peuvent également être d'ordre visuels, avec une héméralopie.

L'examen ophtalmologique révèle souvent une rétinopathie, avec un électrorétinogramme perturbé, des anomalies de la poursuite (poursuite saccadique principalement) (19).

La progression du PKAN classique n'est pas linéaire, mais plutôt en marches d'escalier, avec des périodes de déclin rapide, sans facteur déclenchant net identifié. L'enfant peut présenter des postures dystoniques du tronc, allant parfois jusqu'à l'opisthotonos. Les attitudes dystoniques peuvent être asymétriques, malgré une répartition symétrique des lésions pallidales à l'IRM. La dystonie oromandibulaire est fréquente, accompagnée du « *praying mantis sign* », ou signe de la mante religieuse, qui correspond à une attitude du patient qui se touche le menton avec ses

deux poings fermés, ses coudes étant fléchis. L'altération de la marche et les troubles de l'équilibre sont constants, et la plupart des enfants atteints se déplacent en fauteuil roulant avant l'âge de l'adolescence. Il existe également une dysarthrie et des troubles de la déglutition, avec des risques de pneumopathies d'inhalation subséquents.

Lorsque le PKAN se déclenche plus tard dans la vie, en général dans la deuxième ou troisième décennie, les symptômes sont beaucoup plus variés. L'adolescent ou le jeune adulte atteint de PKAN atypique peut présenter initialement des troubles de l'élocution, se manifestant par un bégaiement, une palilalie ou une hypophonie de type syndrome parkinsonien, une dysphonie spasmodique ou une dysarthrie due à une dystonie oropharyngée. Les symptômes d'ordre psychiatriques sont également fréquents, avec une labilité émotionnelle, une impulsivité, des caractéristiques obsessionnelles-compulsives et des changements de comportements non spécifiques qui peuvent parfois être mis sur le compte des changements liés à l'adolescence, jusqu'à ce que d'autres signes neurologiques apparaissent. Les signes moteurs typiques de la maladie peuvent n'apparaître que plus tard dans la maladie, la plupart des patients présentant une dystonie, un syndrome parkinsonien et une spasticité d'intensité variable. Les symptômes moteurs extrapyramidaux dans le PKAN atypique sont corrélés à l'âge de début, les adolescents présentant plus de symptômes dystoniques que de syndrome parkinsonien, tandis que le schéma inverse est observé chez les patients débutant la maladie après 20 ans. Les dystonies induites par l'action sont fréquemment observées dans les cas de PKAN atypiques, et peuvent être un élément clé pour poser le diagnostic. La rétinopathie pigmentaire est rare dans le PKAN atypique, tandis que les anomalies des saccades et de la poursuite sont fréquentes. La progression du PKAN atypique est beaucoup plus lente que celle de la forme classique, et de nombreux individus ont une espérance de vie quasi normale. Il y a en général un déclin rapide au début de la maladie puis une stabilisation des symptômes.

Les fonctions intellectuelles peuvent être perturbées dans le PKAN, mais les troubles cognitifs ne sont pas constants.

Les déficits intellectuels sont plus fréquents dans les formes de début précoce, et leur sévérité est d'autant plus importante que l'âge de début de la maladie est précoce (20).

3.3.2.3 Imagerie

Les IRM dans le PKAN sont en général quasi pathognomoniques. Les séquences T2 centrées sur les noyaux gris centraux montrent des globi pallidi hypointenses, avec une région d'hyperintensité centrale et antérieure, réalisant le signe dit de "l'œil du tigre", représenté sur la

Figure 11 (1). La région centrale d'hyperintensité peut précéder la zone périphérique hypointense.

La substance noire peut également être légèrement hypointense sur les séquences T2, et de façon plus rare, les noyaux dentelés et les noyaux sous thalamiques (21).

Bien que ces images IRM chez un individu présentant des signes caractéristiques de NBIA à l'examen clinique soient hautement prédictives de variants pathogènes dans *PANK2*, l'œil de tigre n'est ni parfaitement sensible ou spécifique. Il existe de rares cas de patients atteints de PKAN sans signe de l'œil de tigre à l'IRM (22). Inversement, des imitations de l'"œil du tigre" peuvent être observées dans le MPAN, chez les personnes ayant été intoxiquées au monoxyde de carbone, et dans de rares cas d'atrophie multisystématisée (23,24).

De façon plus rare mais non exceptionnelle, des patients présentant des calcifications bipallidales ont été décrits, faisant porter initialement à tort le diagnostic de maladie de Fahr (25).

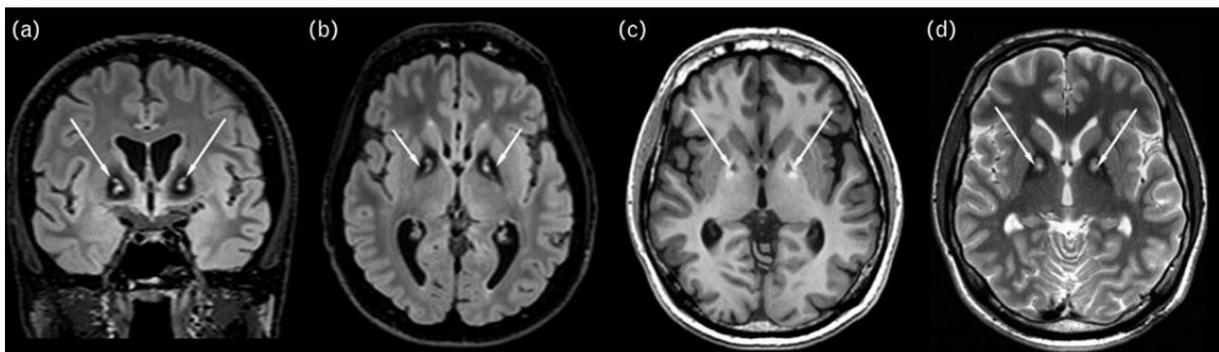


Figure 11 : Coupes d'IRM cérébrales d'un patient de 43 ans atteint de PKAN. (a) : coupe coronale en FLAIR, (b) : coupe axiale en FLAIR, (c) : coupe axiale en T1, (d) : coupe axiale en T2. Hyperintensité centrale (flèches blanches) des globi pallidi, entourée d'une couronne hypointense sur les séquences pondérées FLAIR et T2, réalisant le classique œil de tigre. En T1 (c), hypointensité centrale entourée d'une hyperintensité.

3.3.2.4 Génétique

Le PKAN est une maladie récessive, liée à au gène *PANK2*, ce sont donc des variants bialléliques homozygotes ou hétérozygotes composites de *PANK2* qui sont à l'origine du PKAN.

Le gène *PANK2* est situé sur le chromosome 20. La prévalence du PKAN est estimée à 1 individu sur 1 000 000. La fréquence est plus élevée en République Dominicaine, dans la ville de Cabral, avec un variant unique retrouvé, reflétant un effet fondateur.

La plupart des variants décrits sont des faux-sens, mais des petites délétions, duplications, ainsi que des variants d'épissage ont également été décrits. Les variants les plus communs sont les faux-sens suivants : c.1231G>A et c.1253C>T. Les autres variants sont principalement privés, à l'instar du variant fondateur de République Dominicaine, c.680A>G.

Le gène *PANK2* code pour la pantothénate kinase de type 2, qui phosphoryle la vitamine B5, la N-pantothénaïl cystéine et la pantéthéine dans la première étape clé de régulation de la biosynthèse du coenzyme A (CoA), et est donc essentiel pour le métabolisme des acides gras et de ses intermédiaires. La voie de synthèse du CoA est illustrée sur la Figure 12 (26).

PANK2 fait partie du groupe des quatre enzymes pantothénate kinase humaines. Cette enzyme est située dans l'espace intermembranaire mitochondrial, alors que les autres enzymes PANK sont situées dans le cytosol (27). L'enzyme PANK2 fonctionne en homodimères, elle catalyse la conversion du pantothénate (vitamine B5) en 40-phosphopantothénate. Cette réaction est dépendante de l'ATP, et est la première étape limitante de la biosynthèse mitochondriale du CoA (28). Une série d'autres réactions enzymatiques permet ensuite d'aboutir à la synthèse du CoA, qui est un des cofacteurs majeurs du corps humain, permettant la réalisation de nombreux processus biologiques tels que la croissance et la mort cellulaire, la production d'énergie, l'acétylation des protéines, ... (29).

Le gène *PANK2* est ubiquitaire, mais son expression la plus importante est dans le cerveau, au niveau des hémisphères cérébraux et cérébelleux, ainsi que les noyaux gris centraux (30).

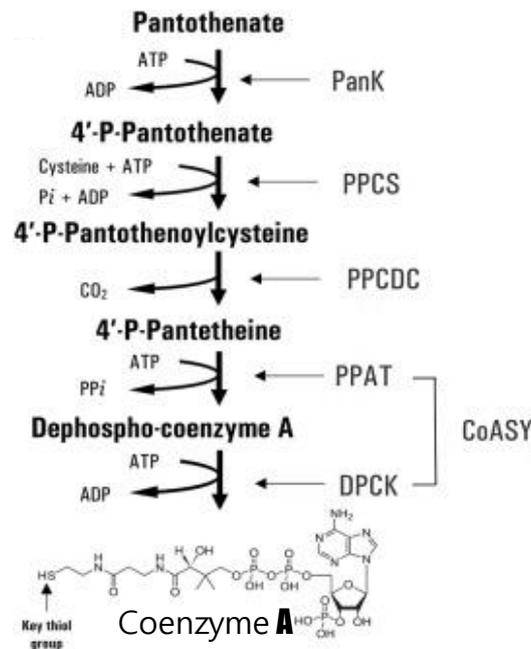


Figure 12 : voie de synthèse du coenzyme A

3.3.2.5 *Physiopathologie*

Les mécanismes exacts d'accumulation de fer dans le PKAN sont encore inconnus. Une des premières hypothèses formulées était basée sur l'augmentation du taux de cystéine chez certains patients atteints du PKAN, et postulait qu'il y aurait des agrégats fer-cystéine intracérébraux, conduisant à un stress oxydatif neurotoxique (31). Cependant, cette hypothèse a été infirmée par la suite, des nombreux patients atteints de PKAN n'ayant pas d'augmentation de leurs taux de cystéine. Les hypothèses actuelles font le lien entre le fer, le CoA, et le métabolisme des lipides dans les mitochondries.

Il a été observé dans les cellules où *PANK2* est inactivé de façon biallélique qu'il y a plus d'ARNm de ferroportine, plus de récepteurs de la transferrine de type 1 (Trf1) et moins de ferritine (32).

Les fibroblastes de patients atteints de PKAN présentent une altération de l'homéostasie du fer mitochondrial, des anomalies du potentiel membranaire mitochondrial, et une accumulation de radicaux libres (33). Des anomalies du métabolisme des acides gras, à la fois au niveau plasmatique et dans les fibroblastes ont également été mise en évidence (34).

De plus, dans environ 10 % des cas de PKAN, des acanthocytes sont détectés au frottis sanguin (35). Cette forme particulière des globules rouges pourrait être liées à une altération des phospholipides membranaires, conduisant à une perte de sa fluidité, et une modification des interactions entre les protéines transmembranaires et celles du cytosquelette (36).

Les zones cérébrales avec accumulation de fer sont très circonscrites dans le PKAN, avec une atteinte préférentielle des globi pallidi. Sur les coupes macroscopiques de globi pallidi, on retrouve une décoloration rouillée, qui atteste la présence de fer dans les globi pallidi. En vision microscopique, on visualise une zone centrale de déplétion neuronale, qui correspond à la zone centrale de l'œil de tigre vu en IRM (37).

3.3.2.6 *Thérapeutiques spécifiques*

Actuellement, le traitement des PKAN est symptomatique, même s'il existe actuellement plusieurs pistes thérapeutiques à l'essai.

Les symptômes tels que la dystonie et la spasticité sont traités avec des anticholinergiques ou des antispasmodiques. Les injections focalisées de toxine botulique peuvent également être réalisées.

La prise en charge est pluridisciplinaire, impliquant les médecins neurologues, généticiens, de rééducation, des ergothérapeutes, kinésithérapeutes et orthophonistes, afin de retarder les complications de la maladie.

Chez les enfants atteintes de forme classique de PKAN, il peut exister des périodes de « tempête dystonique ». Ces exacerbations gravissimes peuvent mettre en danger la vie de l'enfant. Il convient de rechercher une épine irritative telle qu'une infection, un fécalome, une douleur, notamment une fracture qui peut passer inaperçue. Si aucun facteur déclenchant n'est retrouvé, ou que le traitement étiologique n'est pas suffisant, le traitement de ces crises dystoniques consiste en l'administration de traitements anti-dystoniques, accompagnés d'une sédation plus ou moins profonde. L'administration intrathécale de baclofène ou la stimulation cérébrale profonde peuvent également être envisagées si les mesures précédents sont insuffisantes (38).

La déféripone, molécule chélatrice du fer, a été testée chez des patients atteints de PKAN de façon randomisée contre placebo, pendant 18 mois (TIRCON2021 V1). L'objectif primaire était de mesurer la quantité intracérébrale de fer et de ralentir la progression de la maladie. Les analyses n'ont pas permis de mettre en évidence de ralentissement significatif de la progression de la maladie à 18 mois (critère primaire), mais ont permis de montrer une baisse dans la quantité de fer dans les globi pallidi sur les IRM, de façon comparative par rapport au groupe placebo. De plus, une diminution de l'aggravation du handicap a été démontrée dans le groupe traité pendant 36 mois par rapport au groupe traité uniquement pendant les 18 derniers mois. La tolérance du médicament était satisfaisante (39,40). Les patients inclus dans l'étude peuvent actuellement continuer à recevoir de la déféripone à titre compassionnel.

Une autre molécule, le fosmetpantoténate, a également été testée pendant 6 mois, de façon randomisée contre placebo. L'objectif était de réaliser une thérapie de remplacement de la pantothénate kinase déficiente chez les patients atteints de PKAN. L'essai clinique n'a pas permis de mettre en évidence une supériorité du fosmetpantoténate par rapport au placebo (41).

3.3.2.7 Recherche en cours

La cohorte TIRCON est une cohorte de patients existant depuis 2013, qui a pour but de suivre l'évolution naturelle de la maladie (PKAN en particulier, mais également les autres sous types de NBIA) et de préparer les différents essais cliniques. Elle est menée de façon internationale, avec une coordination par le Professeur Thomas Klopstock à Munich (42).

Il n'existe pas de biomarqueur connu dans le sang ou dans le cerveau à ce jour. Les modèles animaux ont donc toute leur place, mais sont difficile à interpréter.

Il existe plusieurs projets de recherche en cours, à des stades différents, présentés ci-dessous.

Le groupe d'Ody Sibon (chercheuse à Groningen, Pays-Bas) a identifié que la 4'-phosphopantéthéine est une source pour la synthèse de CoA (43). Il y a une baisse dans COASY dans les cerveaux des souris, les fibroblastes des patients et dans le sang des patients et des souris. Son équipe a réalisé un essai clinique d'administration de CoA-Z pendant 14 jours, elle met en évidence une augmentation significative d'ARNm de *COASY* dans le sang. Ces résultats sont encore préliminaires et non confirmés, il convient donc d'être prudent avant d'affirmer une efficacité clinique.

Une étude récente, très prometteuse, travaille sur la 4'-phosphopantéthéine, qui corrigerait les anomalies du CoA et du fer chez un modèle de souris PKAN. L'équipe de Susan Hayflick a travaillé sur des souris KO PKAN et a tout d'abord montré, sur des prélèvements cérébraux ciblés sur les globi pallidi, des anomalies du métabolisme du CoA, de l'homéostasie du fer, du métabolisme de la dopamine et de la fonction mitochondriale. Ils ont choisi la protéine COASY comme biomarqueur crucial pour juger de l'efficacité de leur traitement, COASY étant le dernier intermédiaire avant la synthèse de CoA (Figure 12) (43).

L'équipe du Dr Suzanne Jackowski à Memphis travaille sur les pantazines, qui sont de petites molécules qui se lient aux protéines PANK, les activent et stimulent la synthèse de CoA. Elles bloquent les protéines PANK dans des conformations actives, les rendant insensibles à l'inhibition par les acylCoA. Ce sont des molécules disponibles *per os* qui traversent la barrière hématoencéphalique. Son équipe a montré que la pantazine PZ-2891 augmente la survie chez les souris double KO PANK1 et 2 (44).

Enfin, l'équipe du Dr Hayflick à Portland travaille sur l'injection de *PANK2* via un plasmide viral (AAV) en ciblant seulement les globi pallidi de souris double KO. Les résultats ne sont pas encore disponibles.

3.3.3 Dystrophie neuroaxonale infantile, ou neurodégénérescence associée à la phospholipase de type A2, (OMIM #256600 et OMIM #610217)

3.3.3.1 Généralités

Le PLAN, lorsqu'il débute dans la petite enfance, est appelé dystrophie neuroaxonale infantile ou INAD (*infantile neuroaxonal dystrophy*). L'appellation dystrophie neuroaxonale infantile vient des données anatomopathologiques, qui mettent en évidence des axones dystrophiques sur les biopsies nerveuses.

3.3.3.2 Clinique

La forme classique de PLAN atteint les enfants en bas âge, entre 6 mois de vie et 3 ans, avec une régression psychomotrice globale. L'hypotonie axiale associée à une aréflexie peuvent être les premiers symptômes, ce qui peut conduire au diagnostic erroné d'amyotrophie spinale infantile. L'atteinte oculaire est fréquente, avec un strabisme, un nystagmus et une atrophie optique conduisant une baisse d'acuité visuelle sévère. L'évolution se fait ensuite vers une tétraparésie spastique. Sur le plan des examens complémentaires, les électroencéphalogrammes enregistrent des rythmes rapides principalement en région frontale, avec parfois d'authentiques crises convulsives (45). Le pronostic est effroyable puisque la majorité des enfants décède avant l'âge de 10 ans.

Lorsque le début de PLAN est plus tardif dans l'enfance, la présentation de la maladie est plus variable et sa progression plus lente. Ces enfants sont dits atteints de "dystrophie neuroaxonale infantile atypique" ou ANAD (*atypical neuroaxonal dystrophy*). Les symptômes cérébelleux sont au premier plan avec une ataxie, une dysarthrie, ainsi qu'une hypotonie et une aréflexie. On observe, à l'inverse de la forme classique, peu d'enfants avec une spasticité. Les troubles cognitifs apparaissent également assez précocement après le début de la maladie, et peuvent parfois être un des premiers symptômes. L'évolution se fait en général vers l'apparition d'un syndrome pyramidal et extrapyramidal (46,47).

La généralisation des examens pangénomiques ont également permis de découvrir une forme adulte de PLAN, avec des patients présentant des éléments dystoniques et extrapyramidaux, ainsi que des troubles cognitifs et/ ou psychiatriques (48). Les patients décrits présentaient une atrophie cérébelleuse sur l'IRM cérébrale, sans dépôts de fer dans les noyaux gris centraux.

3.3.3.3 Imagerie

On retrouve de façon quasi systématique une atrophie cérébelleuse chez les patients atteints de PLAN, ce quel que soit l'âge de début, touchant à la fois le vermis et les hémisphères cérébelleux.

On observe également des hypersignaux du cortex cérébelleux sur les séquences FLAIR et un corps calleux aminci. Au fur et à mesure que la maladie progresse, on observe des hypersignaux de la substance blanche sus tentorielle, pouvant être associés à une atrophie cérébrale.

Les dépôts de fer ne sont pas forcément présents dès les premiers signes cliniques, et sont parfois discrets, même au stade avancé de la maladie. Ils se situent en général dans les globi pallidi, la substance noire et les noyaux dentelés, et ne sont pas présents de façon systématique chez tous les patients.

La Figure 13 montre deux coupes d'IRM d'une patiente de 9 ans, avec une atrophie cérébelleuse ainsi que des dépôts de fer dans les globi pallidi (49).

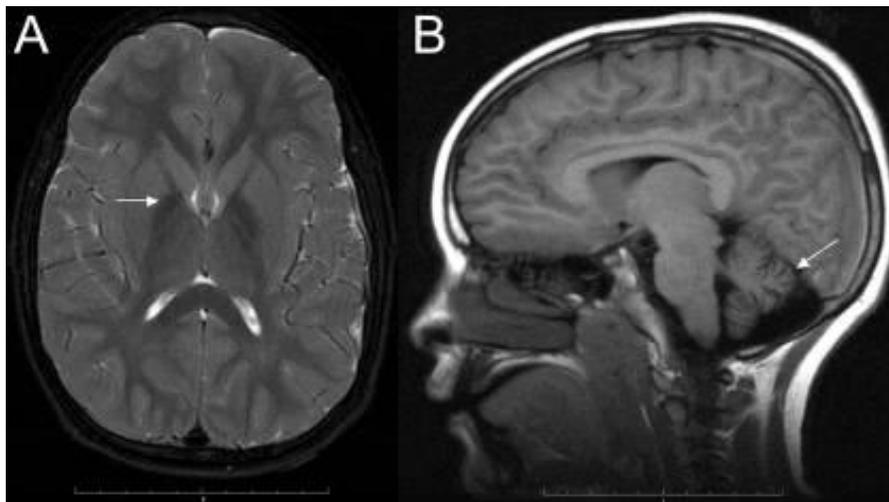


Figure 13 : La coupe axiale en A est pondérée T2 et la flèche désigne l'hyposignal du globus pallidus. La coupe sagittale pondérée T1 en B montre l'atrophie cérébelleuse.

3.3.3.4 Génétique

Le gène *PLA2G6*, code pour la phospholipase indépendante du calcium de type A2, du groupe VI, aussi connue sous le nom de *iPLA2 β* . Cette phospholipase est connue pour jouer un rôle essentiel dans l'homéostasie des lipides membranaires. La transmission est autosomique récessive.

Il existe plus de 20 protéines de type phospholipase A2, cependant, la *PLA2G6* est responsable de plus de 70% de l'activité totale des *PLA2* au niveau cérébral (50). *PLA2G6* est ubiquitaire, de localisation à la fois cytosolique et mitochondriale. Elle fonctionne en tétramères, et est composée d'un domaine ankyrine impliqué dans l'interaction avec les protéines, un motif lipase *GXSXG*, un motif de liaison à l'ATP et un domaine de liaison à la calmoduline (51).

PLA2G6 catalyse l'hydrolyse des glycérophospholipides pour produire des lysophospholipides et des acides gras libres polyinsaturés, tels que l'acide arachidonique. Cette enzyme est

impliquée dans l'homéostasie membranaire, en régulant la composition en acides gras et phospholipides de la membrane. Elle serait également impliquée dans d'autres processus cellulaires tels que la transduction de signaux, la prolifération cellulaire et l'apoptose (52).

Les variants pathogènes bialléliques dans *PLA2G6* causent une quasi-absence de l'enzyme PLA2G6 (53).

Des variants faux sens ainsi que des non-sens sont retrouvés. Des formes plus sévères et plus précoces de la maladie sont associées aux variants tronquants (54,55).

3.3.3.5 Physiopathologie

La caractéristique présentée par la quasi-totalité des patients au niveau neuropathologique est la présence de corps sphéroïdes axonaux, présents de façon diffuse dans le système nerveux central. L'atrophie cérébelleuse est également quasi constante (56). On retrouve également des corps de Lewy et des dépôts de protéine tau (57).

Les souris KO *PLA2G6* ainsi que les patients présentent des anomalies structurelles de leurs mitochondries dans l'ensemble du système nerveux central (58).

Les modèles souris mettent en évidence une atrophie cérébelleuse lente, une accumulation de corps sphéroïdes dans le système nerveux, une dégénérescence de la membrane mitochondriale interne, et une dégénérescence axonale. Ces anomalies seraient expliquées par les altérations membranaires, qui entraîneraient une altération puis une dégénérescence axonale. Les mitochondries touchées pourraient également libérer des radicaux libres oxydatifs pro-apoptotiques, conduisant à une altération des membranes et à des gonflements axonaux. L'atteinte de la membrane mitochondriale interne réduirait également le taux d'absorption du calcium et la capacité de rétention de calcium intra-mitochondrial dans le cerveau, faisant le lien entre le rôle connu de PLA2G6 et la neurodégénérescence observée (59).

Les analyses microscopiques de localisation intraneuronale, réalisés par l'équipe de Kotzbauer, montrent que l'enzyme PLA2G6 est située dans les dendrites et les parties distales des axones en conditions wild-type. Chez les souris KO, il y a une anomalie de distribution avec une présence d'agrégats de PLA2G6 dans les soma neuronaux (53). L'hypothèse faite par cette équipe est que les variants pathogènes dans *PLA2G6* entraînent une perte de l'activité catalytique de PLA2G6, et donc un déficit en acides gras dans les axones et les dendrites, associés à des accumulations neuroaxonales de phospholipides membranaires, créant des corps sphéroïdes.

3.3.3.6 Recherche en cours

Le suivi de l'histoire naturelle de la maladie est réalisé à la fois via TIRCON et via PLAN ready, étude menée par Allison Gregory à Portland, qui utilise la base RedCap ainsi que des échelles de qualité de vie remplies par les familles et les médecins.

Différentes équipes travaillent sur des projets thérapeutiques décrits ci-dessous.

L'équipe américaine de Paul Kotzbauer, a mis en évidence que les variants pathogènes dans *PLA2G6* modifient en général seulement un acide aminé de la protéine. Les changements d'un acide aminé seul ont un effet déstabilisant, et empêchent la protéine PLA2G6 d'obtenir sa conformation normale et nécessaire à son rôle d'enzyme. Un des buts thérapeutiques est de trouver des petites molécules chaperones qui stabiliseraient la protéine PLA2G6. Son équipe a montré que l'activité de l'enzyme PLA2G6 est partiellement restaurée en présence d'ATP, dans des conditions *in vitro* (53).

L'équipe d'Ahad Rahim à l'UCL, travaille actuellement sur un modèle de thérapie génique, via un vecteur viral de type AAV9. Il travaille sur un modèle murin PLAN, qui a des problèmes de coordination et des troubles du mouvement dès 14 semaines de vie, conduisant à une paralysie des pattes inférieures. Les corps sphéroïdes retrouvés dans le cerveau humain sont également retrouvés chez les souris. La thérapie génique permet à la souris de vivre plus longtemps, et accroît sa mobilité (mesurée par des open field tracking), et ce grâce à une injection du vecteur viral (AAV9). La thérapie génique ralentit également la perte neuronale dans le cerveau et la moelle épinière. La thérapie génique est donnée dès la naissance des souris, avant l'apparition des symptômes. Ces résultats ne sont pas encore publiés.

Enfin, l'équipe d'Alex Fay à San Francisco, travaille sur le RT001, un inhibiteur de la peroxydation lipidique localisée à la membrane. Les acides gras polyinsaturés n'étant pas recyclés dans le PLAN, par déficit en phospholipase, il a montré que RT001 permet d'éviter la peroxydation lipidique, qui est une réaction produisant des radicaux libres qui ont un effet toxique cellulaire. RT001 est un acide linoléique stabilisé, de la famille des Omega 6. Des études précliniques sur des fibroblastes ont été faites : les fibroblastes de patients ont un des niveaux élevés de peroxydation lipidique, qui sont réduits après incubation avec le RT001 (60). Leur étude clinique a porté sur la forme classique d'INAD, ils ont inclus 19 patients, entre 2 et 7 ans. Ils ont associé à leur étude un régime pauvre en graisses. Les résultats ne sont pas encore disponibles, l'étude étant actuellement en cours.

3.3.4 Neurodégénérescence associée à la protéine de membrane mitochondriale (MPAN, mitochondrial membrane protein associated neurodegeneration) (OMIM #624298)

3.3.4.1 Généralités

La neurodégénérescence associée à la protéine de la membrane mitochondriale est causée par des variants pathogéniques dans *C19orf12*, protéine ayant un rôle dans l'énergie cellulaire et le métabolisme des acides gras.

3.3.4.2 Clinique

Le MPAN se déclare généralement au cours de la première décennie, mais il existe également des débuts adultes. Les premiers symptômes peuvent être des troubles de la marche avec une démarche cérébello-spastique. Les symptômes fréquents sont des difficultés d'apprentissage, des troubles psychiatriques qui peuvent être présents dès la petite enfance, une dysarthrie, une atrophie optique quasi constante avec une baisse d'acuité visuelle, une dystonie habituellement limitée aux pieds et aux mains. Dans les formes à début adulte, les premiers symptômes sont souvent plutôt d'ordre cognitifs ou comportementaux, puis s'installe un syndrome extrapyramidal avec des troubles de la marche (61). On retrouve également des signes d'atteinte du motoneurone, avec une abolition des réflexes ostéo-tendineux, une faiblesse musculaire (62). La progression de la maladie est lente, sur plusieurs décennies, même si on retrouve fréquemment une aggravation rapide sur les dernières années de vie. Les patients sont quasiment tous en fauteuil roulant à l'âge de 18 ans.

3.3.4.3 Imagerie

On retrouve des dépôts de fer bipallidiaux et dans la substance noire sur l'IRM, avec parfois une hyperintensité centrale des globi pallidi, qui mime l'œil de tigre du *PKAN*. Une atrophie corticale et cérébelleuse peut également être observée (61).

On peut également observer la lamina interne médullaire, qui correspond à une bande d'hyperintensité du globus pallidus, chez la majorité des patients, comme représenté par la tête de flèche sur la Figure 14 (63).

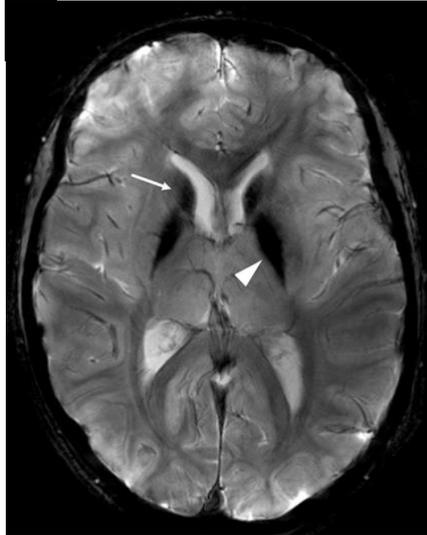


Figure 14 : coupe axiale d'IRM pondérée en T2*, la tête de flèche indique la lamina interne médullaire et la flèche l'hypointensité du noyau caudé

La revue de Stéphane Lehericy *et al.* apporte un cas détaillé d'imagerie pour une patiente atteinte de MPAN de 26 ans, avec une atrophie cérébelleuse, une hypointensité des globi pallidi et de la substance noire, avec également la lamina médullaire interne bien visible, sur les coupes présentées sur la Figure 15 (11).

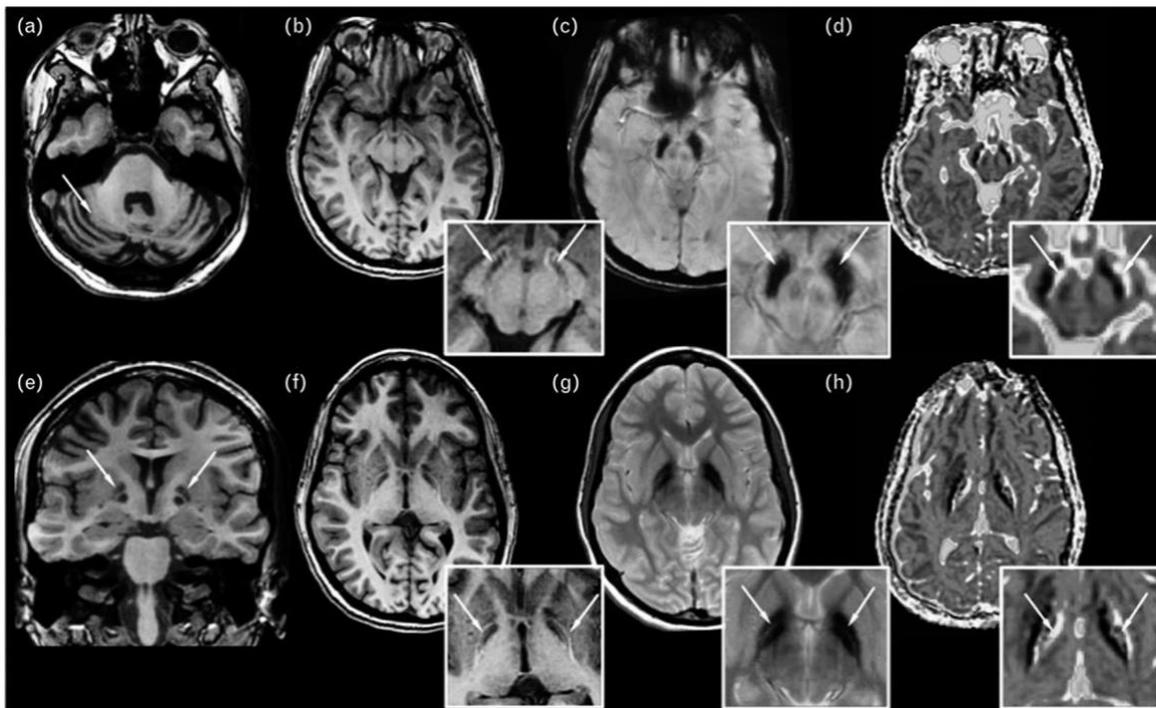


Figure 15 : Coupes axiales d'IRM au niveau cérébelleux (a) pondérée T1, de la substance noire en T1 (b), T2* (c) et ADC (d). Coupe coronale T1 (e) et coupes axiales T1(f), T2* (g) et ADC (h) au niveau du noyau lenticulaire. Les coupes à fort grossissement en T1 montrent l'élargissement de la substance noire et du noyau lenticulaire. La flèche de la figure (a) montre l'atrophie cérébelleuse. La substance noire et le globus pallidus sont hypointenses sur les coupes T2*, avec une hypointensité centrale entourée d'une couronne hyperintense en T1, et une augmentation du coefficient ADC, probablement à cause de la gliose (flèches blanches). On voit nettement la lamina interne médullaire sur la figure (g), avec la flèche.

3.3.4.4 Génétique

La MPAN a deux modes de transmission, autosomique récessif (le plus fréquent et le plus anciennement décrit), et également dominant, de découverte plus récente. Elle est liée à des variants pathogènes dans *C19orf12*.

C19orf12 est un gène nucléaire, qui code pour une protéine située sur la membrane mitochondriale externe, impliquée dans le métabolisme des lipides (64).

Il est important de noter que des variants homozygotes ou hétérozygotes composites dans *C19orf12* sont également associés à la paraplégie spastique de type 43 (SPG43) (65).

C19orf12 est une glissière transmembranaire à la glycine, contenant une protéine avec deux isoformes différents (les codons start étant différents). L'isoforme le plus long est localisé dans les mitochondries et dans le réticulum endoplasmique. Il existe également une petite fraction dans la MAM, ou membrane associée à la mitochondrie, qui correspond à zone de jonction entre les mitochondries et le réticulum endoplasmique, cruciale pour le transport des phospholipides (66).

C19orf12 s'exprime de façon ubiquitaire, avec un niveau d'expression plus élevé dans le cerveau et les adipocytes (30). Des analyses transcriptionnelles ont montré une co-régulation de ce gène avec des gènes impliqués dans la biosynthèse des acides gras, indiquant un lien avec le CoA et le métabolisme des lipides.

Des patients avec des variants hétérozygotes dans *C19orf12* ont également été décrits dans les dernières années, dont l'équipe de neurogénétique bordelaise, suggérant qu'il existe des formes dominantes de MPAN. L'âge de début dans les formes dominantes se situe dans l'enfance comme à l'âge adulte. Les variants sont tous des non-sens situés dans l'exon 3, qui est le dernier exon de *C19orf12*, ces variants échappent donc au *non-mediated decay* (67). Le mécanisme est un effet dominant négatif, la protéine mutée se multimérisant avec la protéine stable.

3.3.4.5 Physiopathologie

Le MPAN est une synucléinopathie, avec une accumulation des corps de Lewy dans les noyaux gris centraux, mais également corticaux. Les dépôts de fer sont visibles dans les globi pallidi et, dans une moindre mesure, dans la substance noire, mais en revanche ils sont quasi absents du cortex. En outre, certains patients présentent également une atrophie corticale et/ou cérébelleuse (64).

3.3.4.6 Thérapeutiques spécifiques

Comme pour toutes les NBIA, le traitement est symptomatique, et adaptable en fonction des symptômes du patient (spasticité, syndrome extra pyramidal...). Les agonistes

dopaminergiques sont à utiliser avec prudence du fait du risque de décompensation psychiatrique chez ces patients. Les patients avec des tableaux psychiatriques au premier plan peuvent bénéficier de traitements neuroleptiques.

3.3.4.7 Recherche en cours

Une échelle de cotation est en cours de mise au point par l'équipe de Marta Skowronska en Pologne, intégrant les symptômes extrapyramidaux, dystoniques, la démence et la baisse d'acuité visuelle, ainsi que des échelles de qualité de vie.

Il existe plusieurs projets de recherche en cours, dont un essai de thérapie génique par l'équipe de Miguel Esteves dans le Massachusetts, qui travaille sur des AAV (adéno-associated virus) recombinants, qui sont des vecteurs portant un gène flanqué de deux régions non codantes ITR (inverted terminal repeat elements). Ces AAV ne s'intègrent pas dans le génome mais permettent une expression de leur gène sur le long terme, quinze ans selon des modèles expérimentaux. Il souhaiterait réaliser des injections intracrâniennes, intrastriatales. Son autre axe de recherche serait la production de micro-ARN ciblant principalement les ARNm de *C19orf12* mutés. Ces projets précliniques n'ont pas donné lieu à la publication de résultats dans la littérature scientifique.

3.3.5 Neurodégénérescence associée à la protéine beta-propeller (OMIM #300894)

3.3.5.1 Généralités

La neurodégénérescence associée à la protéine bêta-propeller ou BPAN (*beta-propeller associated neurodegeneration*) est unique parmi les NBIA par son mode d'hérédité, sa physiopathologie présumée, son profil clinique et ses caractéristiques d'imagerie distinctives.

Le BPAN est une maladie liée à l'X, touchant quasiment exclusivement des filles (68).

Le BPAN semble évoluer en deux phases, avec initialement un retard global de développement psychomoteur et une épilepsie, des signes d'irritation pyramidale et des troubles du sommeil, puis à l'âge adulte le développement d'un syndrome extrapyramidal, des éléments dystoniques et des troubles cognitifs (69).

Avant la découverte du gène *WDR45*, responsable du BPAN, le BPAN était décrit comme une "encéphalopathie statique de l'enfant avec neurodégénérescence".

Le gène *WDR45* code pour une protéine bêta-propeller, impliquée dans l'autophagie (parallèles avec les modèles levures) (69).

La plupart des patients atteints de BPAN sont des femmes, porteuses de variants pathogènes *de novo* dans le gène *WDR45*. L'inactivation du chromosome X pourrait expliquer la variabilité du phénotype observé, et notamment des formes plus « légères » de BPAN (70).

Les hommes présentant une seule copie du chromosome X, il était prédit que le BPAN était létal chez les garçons, à moins que le variant pathogène soit post-zygotique et présent en mosaïque. Cependant, avec la généralisation du séquençage d'exome, des jeunes garçons présentant des variants pathogènes dans *WDR45* ont été mis en évidence ; avec des phénotypes variables, principalement des déficiences intellectuelles associées à de l'épilepsie (71,72). Les symptômes sont similaires dans les deux sexes, avec initialement un retard de développement psychomoteur, suivi à l'âge adulte d'une neurodégénérescence avec déclin cognitif, apparition de symptômes dystoniques et extrapyramidaux. L'accumulation intracérébrale de fer est très rare chez les garçons atteints de BPAN.

3.3.5.2 Clinique

L'enfant présente rapidement un retard de développement psychomoteur. L'acquisition de la marche est retardée, et est faite de façon pathologique, avec souvent une démarche ataxique.

Le développement du langage est aussi altéré, avec une acquisition d'un vocabulaire réduit comparativement aux autres enfants. Les crises convulsives sont fréquentes, et apparaissent également précocement dans l'enfance, même si leur fréquence et caractéristiques varient beaucoup d'un enfant à l'autre.

Les troubles du sommeil sont fréquents, avec une hyper ou hyposomnie, des anomalies des mouvements oculaires rapides (Rapid Eye Movement disorder) (73).

En résumé, le développement psychomoteur des enfants atteints de BPAN est retardé et incomplet dans l'enfance. Les symptômes extrapyramidaux arrivent généralement en fin d'adolescence ou à l'âge adulte, avec une réponse initiale au traitement dopaminergique correcte, puis surviennent rapidement des dyskinésies. De façon parallèle, des troubles cognitifs apparaissent de façon progressive, et conduisent à une perte d'autonomie globale de ces patients.

3.3.5.3 Imagerie

Les premières IRM réalisées dans la petite enfance sont classiquement normales. Lorsque les premiers symptômes extrapyramidaux apparaissent, l'IRM montre en général une hypointensité T2 sur les globi pallidi, la substance noire et les pédoncules cérébraux, comme présenté sur la Figure 16. Ces images sont en rapport avec l'accumulation de fer dans ces structures, qui peut être visualisée plus précocement sur les séquences SWI et T2* (73). Plus tardivement dans la vie de ces patients, l'IRM montre une atrophie prédominant sur le cervelet et le corps calleux (69).

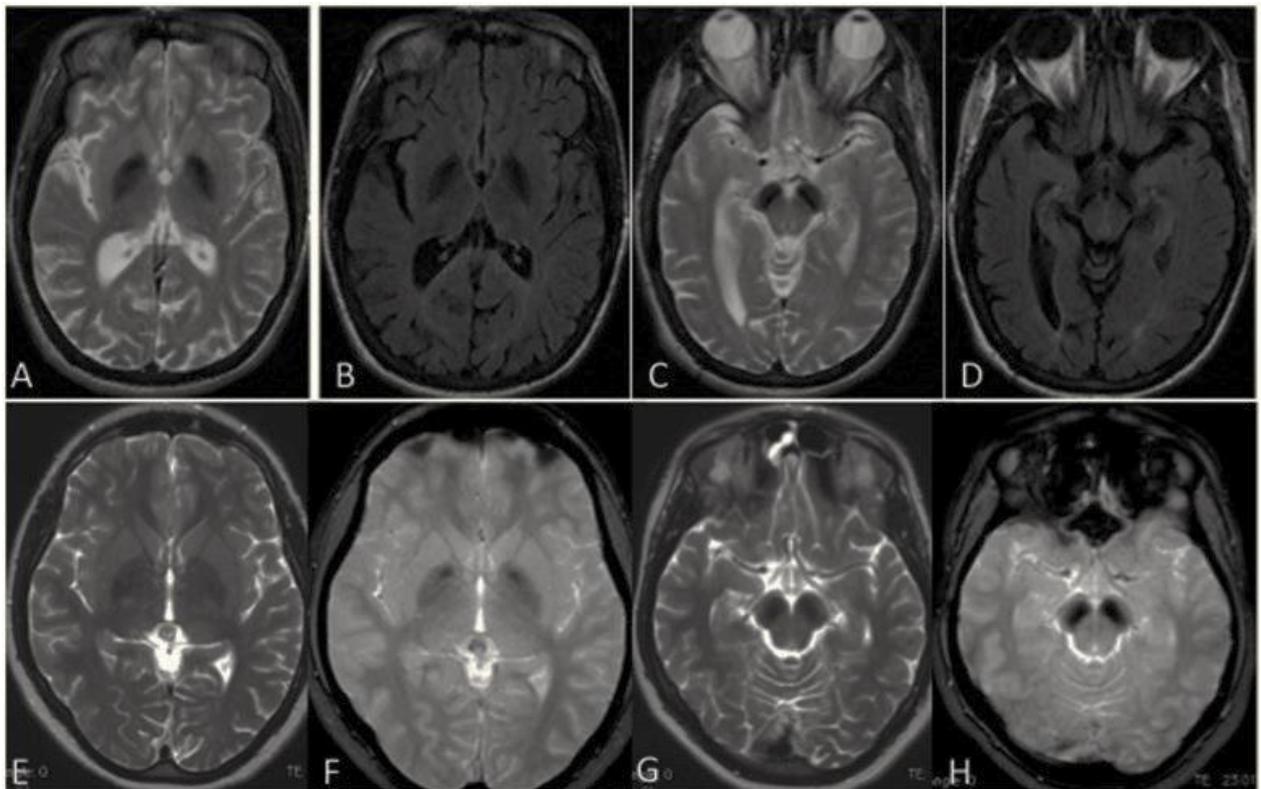


Figure 16 : Coupes axiales d'IRM pondérées T2 (A et E) montrant des globi pallidi hypointenses, ainsi que sur les coupes FLAIR (B) et T2* (F). La substance noire apparaît également hypointense sur les coupes pondérées T2 (C et G), FLAIR (D) et T2* (H).

Il est à noter que les IRM puissantes peuvent montrer tôt dans l'enfance un dépôt linéaire au niveau des bords du putamen (*putaminal pencil lining*), qui correspond à des images précoces de dépôt de fer, que l'on retrouve sur la Figure 17 (74).

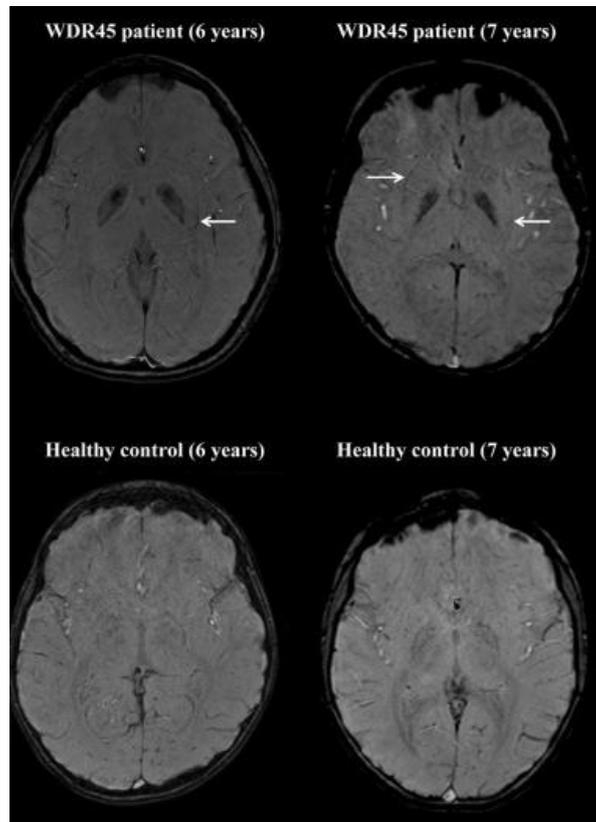


Figure 17 : coupes axiales d'IRM pondérées SWI d'une patiente atteinte de BPAN comparées à celle d'un enfant sain, les flèches indiquent les liserés de fer putaminaux

3.3.5.4 Génétique

Le gène *WDR45* est situé sur le chromosome X. Le mode de transmission du BPAN est atypique, puisque la maladie est chez l'immense majorité des patients sporadique, liées à des variants *de novo*, et touche quasi exclusivement des filles.

Un article fait état d'une petite délétion de *WDR45* retrouvée dans une fratrie, le frère atteint présentant une déficience intellectuelle sévère associée à des crises convulsives. Sa sœur, également atteinte avait un phénotype plus léger, avec une déficience intellectuelle modérée. L'analyse de ségrégation a montré que la mère était porteuse saine de la délétion en mosaïque (75). Avec la généralisation du séquençage d'exome dans la stratégie diagnostique de la déficience intellectuelle, plusieurs patients de sexe masculin ont été décrit, présentant une déficience intellectuelle sévère à profonde, associée de façon quasi constante à des crises convulsives, et en général sans accumulation de fer intracérébral. Leur phénotype serait donc plus sévère et plus précoce (76).

3.3.5.5 *Physiopathologie*

La protéine WDR45 est l'une des membres de la famille des protéines d'échafaudage de type WD40, qui sont impliquées dans les interactions protéine-protéine, et a un rôle dans l'autophagie.

Pour rappel, l'autophagie est un mécanisme physiologique de protection et de recyclage d'éléments cellulaires. Il y a tout d'abord la formation du phagophore, qui est une double membrane phospholipidique, qui va séquestrer avec des protéines, des lipides, des organelles, des débris de membranes, etc., qui devient ensuite l'autophagosome, qui va fusionner avec un lysosome pour être l'autolysosome, et enfin être dégradé.

La levure Atg18, qui est l'orthologue du WDR45 humain, a été bien étudiée pour son rôle essentiel dans la formation des autophagosomes. L'Atg18 se lie à la membrane du réticulum endoplasmique via un motif de liaison phosphatidylinositide-3-phosphate, et facilitent la formation de complexes protéiques en aval (77). Les fibroblastes de patients atteints de BPAN présentent une réduction de l'activité autophagique et une accumulation de structures autophagiques aberrantes à un stade précoce (69).

Il a récemment été démontré que des souris KO-WDR45 présentaient un gonflement axonal, une altération du flux autophagique, avec une accumulation d'agrégats dans l'hippocampe et le noyau caudé, sans surcharge en fer retrouvée (78). Le lien entre l'altération de l'autophagie et la surcharge intracérébrale en fer reste inconnue, même si une étude a mis en évidence dans des fibroblastes de patients atteints de BPAN une up-régulation du transporteur du fer ferreux et une down-régulation du récepteur de la transferrine, avec une augmentation du fer intracellulaire après une période de privation alimentaire (79).

Ces données suggèrent que les l'altération de l'autophagie chez les patients atteints de BPAN pourrait affecter l'élimination des protéines, comme le transporteur de fer ferreux, augmentant la surcharge en fer.

Sur le plan neuropathologique, on observe des enchevêtrements neurofibrillaires tau positifs dans le cortex, le putamen, l'hippocampe et l'hypothalamus. Les corps sphéroïdes axonaux sont facilement visibles dans la substance noire et le globus pallidus (73).

3.3.5.6 *Thérapeutiques spécifiques*

Les traitements sont pour l'instant essentiellement symptomatiques, avec des traitements anti épileptiques dans l'enfance, adaptés au type et à la sévérité des crises convulsives. A l'âge adulte, le syndrome extrapyramidal est fréquemment traité par une supplémentation

dopaminergique, bien que les fluctuations motrices et les dyskinésies apparaissent de façon assez précoce et posent des soucis d'adaptation thérapeutique (80).

3.3.5.7 *Recherche en cours*

Le projet BPAN ready, coordonné par l'équipe de Susan Hayflick à Portland, a pour but de mieux comprendre l'histoire naturelle de BPAN et d'identifier des marqueurs de la maladie qui pourraient être utilisés dans de futurs essais cliniques. La base de données RedCap est utilisée pour collecter les données. Les créateurs de cette base ont dégagé les symptômes suivants, qui leur semblent cruciaux pour le suivi de la maladie : les crises convulsives, les troubles moteurs, les troubles du langage, les troubles du comportement du spectre de l'autisme, et les troubles du sommeil.

L'équipe chinoise de Hong Zhang travaille sur des modèles murins BPAN. Les souris KO naissent normales puis des troubles moteurs apparaissent, ainsi que des troubles d'apprentissage. Les neurones des souris KO sont également gonflés, ce qui est un signe d'anomalie neuronale. *WDR45* est donc crucial pour la fusion autophagosome-lysosome (81).

3.3.6 Neurodégénérescence associée à *FA2H* (FAHN, fatty acid hydroxylase-associated neurodegeneration), (OMIM #612319)

3.3.6.1 Généralités

Le gène *FA2H* est responsable de l'hydroxylation des acides gras, et joue un rôle clé dans la synthèse de la myéline. Ce gène jouerait également un rôle clé dans la régulation du cycle cellulaire (82).

Des variants pathogéniques de ce gène ont été associés à la paraplégie spastique héréditaire de type 35 (SPG35), et à une leucodystrophie avec paraparésie spastique (83). Des études de liaison ont permis de mettre en évidence le rôle de *FA2H* chez des patients avec une tétraparésie spastique, une ataxie et des éléments dystoniques débutant dans l'enfance, avec sur l'imagerie cérébrale des dépôts de fer bipallidaux, amenant à définir un nouveau type de NBIA associé au gène *FA2H* (84).

3.3.6.2 Clinique

La présentation clinique classique est un enfant qui chute et présente des troubles de la marche dans sa première décennie. Une spasticité progressive, une dystonie et des éléments cérébelleux conduisent à une perte de la marche, ainsi qu'une dysarthrie et une dysphagie associées. La baisse d'acuité visuelle liée à une atrophie optique est également fréquente. Les enfants présentent également un déclin cognitif. Le spectre phénotypique est assez proche des enfants PLAN.

3.3.6.3 Imagerie

L'imagerie cérébrale retrouve une accumulation de fer dans les globi pallidi, une atrophie du corps calleux, ainsi qu'une atrophie du cervelet, du pont et de la partie haute de la moelle épinière.

Les séquences pondérées en T2 et FLAIR montrent des hypersignaux de la substance blanche. Un acronyme a été proposé pour regrouper ces différentes données d'imagerie : WHAT pour *White matter changes, Hypointensity of the globus pallidus, pontocerebellar Atrophy and Thin corpus callosum* (85). La Figure 18 illustre cet acronyme, et correspond aux coupes d'IRM d'un patient de 29 ans.

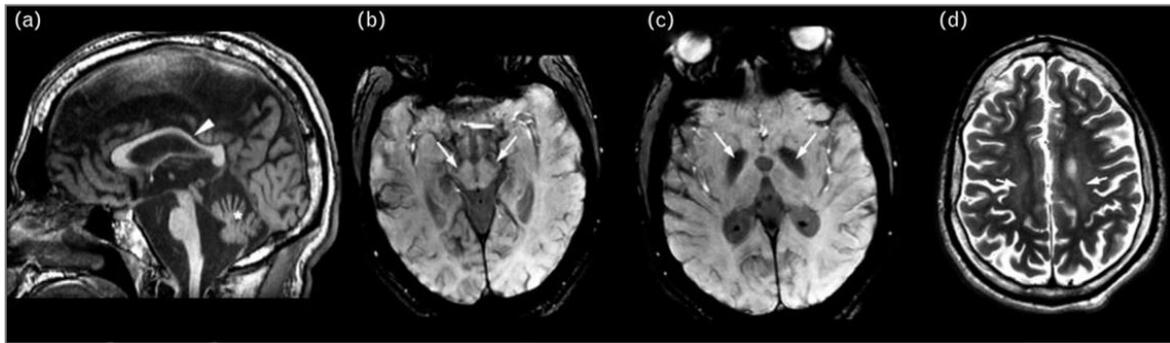


Figure 18 : Coupes IRM d'un patient de 29 ans de sexe masculin, atteint du syndrome FAHN. (a) est une coupe sagittale pondérée T1, l'astérisque montre l'atrophie cérébelleuse, et la flèche le corps calleux fin. Les coupes (b) et (c) sont des coupes axiales pondérées SWI montrant des dépôts de fer dans la substance noire (flèches en (b)), et sur les globi pallidi (flèches en (c)). La coupe (d) est une coupe axiale pondérée T2 montrant avec les flèches des hypersignaux dans la substance blanche.

3.3.6.4 Génétique

FAHN est une maladie de transmission autosomique récessive, liée au gène *FA2H*. *FA2H* code pour une mono-oxygénase dépendante du NADPH, également appelée hydroxylase des acides gras de type 2, localisée dans le réticulum endoplasmique (84). Cette enzyme catalyse l'hydroxylation des acides gras, produisant un précurseur des céramides, qui sont des éléments essentiels pour la constitution de la gaine de myéline (86).

De plus, *FA2H* est la seule enzyme de type hydroxylase de type 2 présente dans les cellules de Schwann et les oligodendrocytes, corroborant l'hypothèse que les variants pathogènes dans *FA2H* perturbent la synthèse de myéline (87). Le dernier argument de pathogénicité fait le parallèle avec la maladie de Parkinson, où une anomalie de la synthèse des céramides a été tenue pour responsable de la formation de corps de Lewy et d'apoptose cellulaire (88).

3.3.6.5 Physiopathologie

Les souris n'ayant pas de gène *FA2H* fonctionnel montrent un développement global normal, mais présentent de façon très prématurée une dégénérescence de la myéline, principalement au niveau du nerf sciatique (89). Ces données montrent qu'une myéline normale à la fois de vue structurel et fonctionnel peut être mise en place en l'absence d'enzyme fonctionnelle, mais que le maintien de la stabilité de la myéline sur le long terme est perturbé.

3.3.7 Neurodégénérescence associée à la protéine COASY (OMIM #615643)

3.3.7.1 Généralités

La neurodégénérescence associée à la protéine COASY (CoPAN) rejoint le PKAN comme deuxième erreur innée du métabolisme de la CoA.

Cette maladie est extrêmement rare, puisqu'on retrouve seulement 9 patients dans la littérature (90–93).

3.3.7.2 Clinique

Le CoPAN se manifeste dans la première décennie avec des troubles de la marche et une déficience intellectuelle légère. Une dystonie oro-mandibulaire, un syndrome extrapyramidal ainsi qu'une dysarthrie, une spasticité progressive et une neuropathie axonale apparaissent au cours de l'évolution de la maladie.

L'évolution se fait vers une perte de la marche autour de l'adolescence. Il n'y a pas de troubles visuels rapportés.

Des patients avec un phénotype congénital ont été rapportés, il s'agit de deux enfants d'une même fratrie présentant un retard psychomoteur sévère, une ataxie, une microcéphalie et une petite taille. L'IRM mettait en évidence des hyperintensités striatales, un corps calleux court des anomalies de la substance blanche fronto-temporo-pariétales sans dépôts ferriques (92).

Un phénotype prénatal a également été décrit, avec un fœtus présent une microcéphalie, une hypoplasie cérébelleuse sévère et une arthrogyrpose. (93).

3.3.7.3 Imagerie

L'IRM montre une hypointensité bipallidale avec une région centrale d'hyperintensité rappelant le signe de l'œil du tigre observé dans le PKAN (90).

On retrouve également des hyperintensités striatales et thalamiques, correspondant à un gonflement de ces régions, qui sont présentes dans la petite enfance puis régressent, avant que les dépôts de fer dans les globi pallidi et la substance noire apparaissent. La Figure 19 reprend ces différentes données (90).

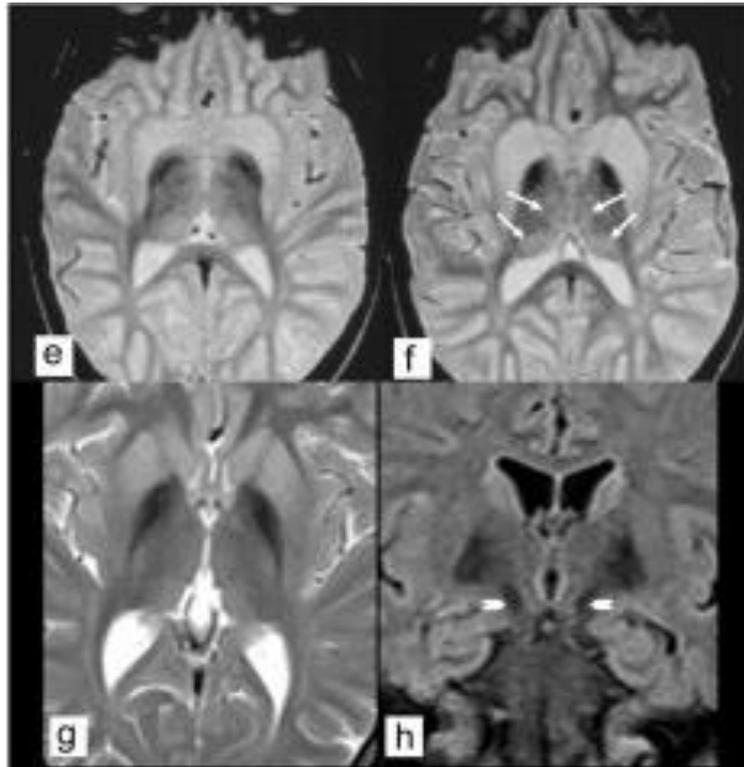


Figure 19 : IRM d'une patiente à l'âge de 9 ans (e, f) et à l'âge de 19 ans (g, h). Les coupes axiales T2 en (e) et (f) montrent des hypointensités pallidales. Les noyaux caudés et les putamen sont gonflés et hyperintenses. On note également une hyperintensité dans les thalami médians et postérieurs (flèches blanches). La coupe axiale en (g) montre l'hypointensité pallidale bilatérale. La coupe coronale FLAIR en (h) montre un hyposignal bipallidal et dans la portion médiane de la substance noire (têtes de flèches).

3.3.7.4 Génétique

Le CoPAN est une maladie de transmission autosomique récessive, lié à des variants dans le gène *COASY*. Les variants retrouvés sont des faux sens.

Ce gène code pour la 40-phosphopantéthéine adénylyltransférase/déphospho-CoA kinase (PPAT/DPCK), plus connue sous le nom de CoA synthase, qui catalyse les deux dernières étapes de la synthèse du CoA (Figure 12). Pour rappel, le CoA est une molécule mitochondriale, principalement située dans la matrice mitochondriale, et également en petite partie à la membrane mitochondriale externe (90,94).

Le gène *COASY* a trois transcrits, dont deux seulement, *COASY-a* et *COASY-b* deviennent des protéines (95).

3.3.7.5 Physiopathologie

La physiopathologie du CoPAN est mise en parallèle avec le PKAN, les deux maladies étant liées à des anomalies de la synthèse du CoA, suggérant les rôles cruciaux du CoA et de la mitochondrie dans la physiopathologie des NBIA.

L'analyse de fibroblastes COPAN a montré une réduction significative de la synthèse de CoA, mais pas une abolition totale, suggérant l'existence d'une voie alternative de synthèse du CoA, ou que le gène *COASY* muté puisse conserver une fonction résiduelle.

3.3.7.6 Recherche en cours

L'équipe italienne d'Ivano Di Meo travaille sur un modèle murin. La perte de *COASY* n'est pas compatible avec la vie, les patients ont une réduction de *COASY* mais pas une absence complète. La souris a une durée de vie plus courte, avec des troubles moteurs, une incapacité à se mouvoir correctement et des mouvements pseudo-dystoniques.

Dans le cerveau des souris, son équipe ne retrouve pas de signes de neurodégénérescence, et l'explique par la courte durée de vie des souris (durée de vie médiane = 13 jours) et donc l'absence de temps nécessaire pour que la neurodégénérescence intervienne. Son équipe retrouve également des taux normaux de CoA et d'acétyl-CoA, une expression normale des gènes de la famille PANK. Cependant, ils ont trouvé des altérations de protéines impliquées dans le métabolisme de fer : augmentation de la chaîne légère du ferritine, qui s'accumule dans les neurones du cortex, du noyau sous thalamique principalement, dans des neurones GABAergiques, sous la forme de granules cytoplasmiques. De la spectrométrie ionique de masse montre une accumulation de fer, de calcium et de magnésium localisée. Il y a également une down-regulation du cholestérol dans la substance blanche. Au niveau mitochondrial, les activités des complexes respiratoires sont normales, mais il y a une altération de la morphologie mitochondriale, et une altération de la respiration globale si on prend des mitochondries isolées. Les résultats ne sont pas encore publiés.

3.3.8 Neuroferritinopathie (OMIM #606159)

3.3.8.1 Généralités

Les variants pathogènes hétérozygotes dans le gène de la chaîne légère de la ferritine sont responsables de la neuroferritinopathie.

3.3.8.2 Clinique

Les principales caractéristiques cliniques sont des éléments choréodystoniques, un syndrome extrapyramidal et des troubles cognitifs, qui apparaissent généralement à l'âge adulte. D'un point de vue biologique, la ferritine sérique est abaissée.

La majorité des cas décrits dans la littérature sont regroupés géographiquement dans le comté de Cumbria, au nord-ouest de l'Angleterre, avec un variant unique (460insA), reflétant un effet fondateur.

La neuroferritinopathie se distingue de la maladie de Huntington par sa dystonie orofaciale induite par le mouvement, une présentation asymétrique, un déclin cognitif tardif et surtout par la présence d'une accumulation anormale de fer dans le noyau caudé, le putamen, le thalamus, le globus pallidus, la substance noire et le noyau rouge (96).

3.3.8.3 Imagerie

On retrouve sur l'IRM des dépôts de fer dans les noyaux gris centraux et dans le cervelet. On peut également noter une atrophie corticale et cérébelleuse modérée, et une cavitation putaminale (97). La cavitation putaminale est visible sur les séquences T2/ FLAIR, comme des zones d'hyperintensités confluentes impliquant le globus pallidus et le putamen.

Du fer cortical est également présent et se visualise sous la forme d'un liseré appelé « *cortical pencil lining* », signe également retrouvé dans l'acéruléoplasminémie et aussi de façon physiologique chez les sujets de plus de 50 ans (98).

La Figure 20 montre les images IRM d'un patient de 62 ans, atteint de neuroferritinopathie depuis ses 50 ans, qui reprend l'ensemble des éléments décrits ci-dessus (11).

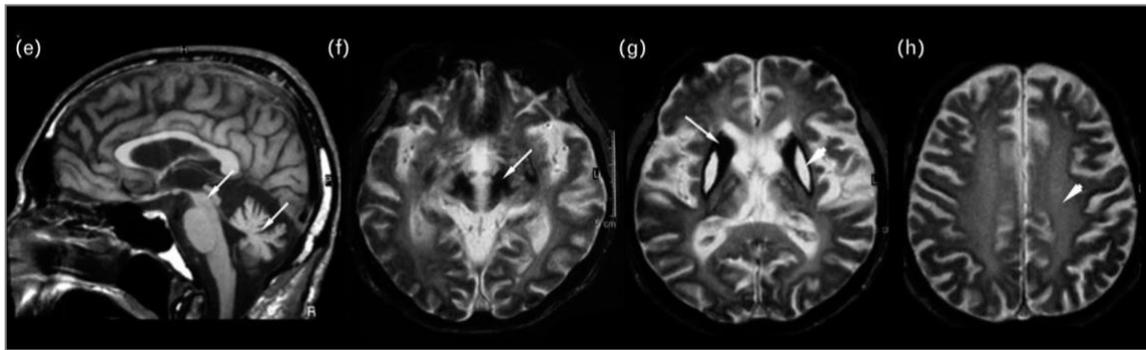


Figure 20 : Coupe sagittale T1 en (e) montrant l'atrophie cérébelleuse et du mésencéphale (flèches). Les coupes axiales T2 de (f) à (h) montrent des aires d'hypointensités correspondant à dépôts de fer dans la substance noire (f), les globi pallidi, les noyaux caudés, les thalami et les putamen (g), avec une hyperintensité centrale dans le putamen montrant de la cavitation (flèche), et des hyperintensités de la substance blanche en (h), montrées par la tête de flèche.

Le signe de l'œil de tigre a déjà été rapporté, comme présenté sur la Figure 21, qui représente une coupe axiale en écho de gradient T2 d'une femme 45 atteinte de neuroferritinopathie (99).

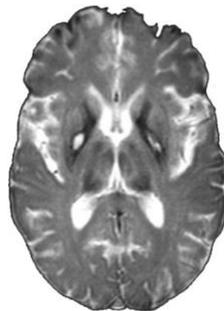


Figure 21: coupe axiale d'IRM montrant une image en œil de tigre au niveau des globi pallidi

3.3.8.4 Génétique

La neuroferritinopathie est une maladie de transmission autosomique dominante, liée au gène *FTL*, qui code pour la chaîne légère de la ferritine. La ferritine est la principale protéine de stockage intracellulaire du fer, elle se compose de 24 sous unités de deux types, les chaînes légères et lourdes, assemblées dans des proportions différentes pour former une structure sphérique avec une cavité hydrophobique, qui accueille plusieurs milliers d'atomes de fer (100).

3.3.8.5 Physiopathologie

La protéine *FTL* mutée perturbe la structure de la ferritine ainsi que sa capacité de transport du fer, entraînant un dépôt anormal de fer dans le cerveau, qui conduit à de la gliose et de la perte neuronale (101). Il a été montré que l'instabilité de la ferritine liée à des variants pathogènes dans *FTL* conduisait à une baisse de l'incorporation de fer dans la transferrine et une accumulation d'agrégats de *FTL* et d'ubiquitine (102). Les modèles murins montrent des agrégats cytoplasmiques de ferritine, une accumulation de fer intracérébral et un phénotype neurodégénératif d'apparition progressive ainsi qu'une espérance de vie réduite (103).

3.3.9 Acéruéoplasminémie (OMIM #604290)

3.3.9.1 Clinique

L'acéruéoplasminémie apparaît à l'âge adulte et se caractérise par des mouvements anormaux (dystonie faciale, chorée, tremblements, rigidité extrapyramidale, ataxie), un déclin cognitif, l'apparition d'un diabète et des anomalies rétinienne, correspond à la triade classique de l'acéruéoplasminémie (les mouvements anormaux et les troubles cognitifs étant regroupés dans les symptômes neurologiques) (104).

On retrouve également une anémie microcytaire, un taux de céruléoplasmine sérique faible ou nul, un taux de ferritine élevé, un faible taux de fer et de cuivre sérique, avec un cuivre urinaire normal.

3.3.9.2 Imagerie

L'IRM met en évidence une surcharge en fer diffuse, impliquant tous les ganglions de la base (striatum, globus pallidus, substance noire), les noyaux rouges, les noyaux dentelés, les thalami, les corps mamillaires, l'hippocampe et le cortex (11,104).

La Figure 22 illustre un cas d'acéruéoplasminémie, chez une femme de 60 ans ayant eu ses premiers symptômes au début de la cinquième décennie (11). Les images montrent les dépôts de fer dans la quasi-totalité des structures anatomiques sus-citées.

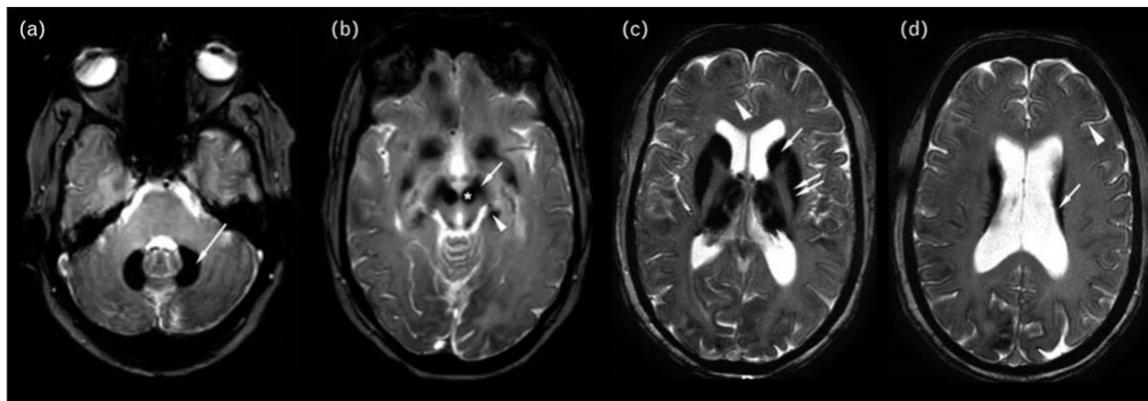


Figure 22 : Les coupes axiales T2 montrent de larges plages d'hyposignaux du fait des dépôts de fer, dans les noyaux dentelés (a), l'hippocampe avec la tête de flèche en (b), le noyau rouge avec l'astérisque en (b), la substance noire avec la flèche en (b), le noyau caudé (flèche), le putamen (double flèche) et le cortex (tête de flèche) en (c), et le cortex (tête de flèche) et le noyau caudé (flèche) en (d).

3.3.9.3 Génétique

L'acéruéoplasminémie est une maladie de transmission autosomique récessive, liée à des variants dans le gène *CP*. On retrouve un effet fondateur au Japon. Les variants pathogènes dans *CP* causent l'instabilité ou la non-fonctionnalité de la céruléoplasmine.

Le gène *CP* code pour une glycoprotéine membranaire qui contient des atomes de cuivre, et qui fonctionne comme une ferroxidase, en facilitant l'export de fer médié par la ferroportine. *CP* est la seule ferroxidase exprimée par les astrocytes. L'absence de céruléoplasmine empêche les astrocytes d'oxyder le fer qui entre dans le système nerveux central, et il en résulte une entrée non contrôlée de fer par des voies indépendantes de la transferrine dans les astrocytes (105). Les analyses *in vitro* ont montré que la protéine *CP* mutée est bloquée dans le réticulum endoplasmique (97).

3.3.9.4 Physiopathologie

A l'instar de la neuroferritinopathie, il s'agit d'un trouble du métabolisme du fer : les variants pathogéniques du gène *CP* entraînent une absence ou une réduction du taux de la protéine céruléoplasmine, qui est un transporteur du cuivre. Il en résulte un transport anormal de fer et des dépôts ferriques dans tout l'organisme, y compris dans le système nerveux central.

Les analyses neuropathologiques montrent une neurodégénérescence sévères dans les noyaux gris centraux et les noyaux dentelés, associée à des dépôts de fer dans le cortex cérébral et cérébelleux, dans la rétine, le foie, le pancréas et le myocarde (106).

3.3.9.5 Thérapeutiques spécifiques

La chélation du fer est couramment utilisée, sans amélioration clinique nette (107). Les différents agents chélateurs du fer sont la desferrioxamine, en injection intraveineuse, le deferasirox et la déféripone, se prenant tous les deux par voie orale.

3.3.9.6 Recherche en cours

Il existe plusieurs modèles murins, développés selon différents procédés. Une souris *CP* knock-out a montré une surcharge en fer et une augmentation de la peroxydation lipidique dans le cerveau, avec également des troubles moteurs, et au niveau neuropathologique une perte de neurones dopaminergiques (108).

3.3.10 Le syndrome de Woodhouse-Sakati (OMIM #241080)

3.3.10.1 Clinique

Les symptômes fréquemment retrouvés sont d'ordre neurologiques, tels qu'un syndrome extrapyramidal, un déclin cognitif, et des symptômes d'ordre endocriniens qui se traduisent par un diabète et un hypogonadisme (109,110). Une alopécie est également fréquemment rapportée. L'âge de début se situe en général autour de l'adolescence.

3.3.10.2 Imagerie

L'IRM montre des hypointensités dans les globi pallidi ainsi que des hypersignaux de la substance blanche. La

représume les données IRM classiques (11).

Au fur et à mesure que la maladie avance, on voit également des dépôts de fer dans la substance noire et dans le noyau rouge. On peut également trouver des dépôts de fer dans la glande pituitaire, des espaces péri-vasculaires élargis, comme représenté sur la Figure 23 (111).

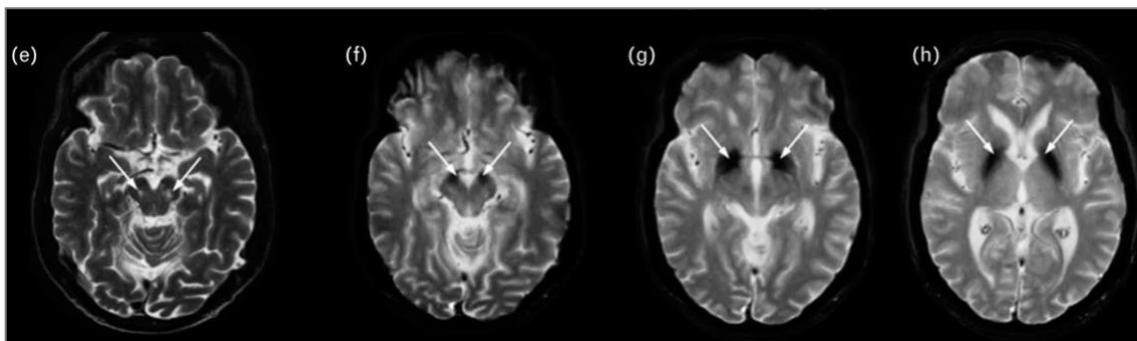


Figure 23 : Patient présentant un syndrome de Woodhouse Sakati. Les coupes axiales T2 (e) et T2* (f-h) montrent des espaces péri-vasculaires élargis dans la zone de la substance noire (flèche en (e)) et des hyposignaux de la substance noire (flèche en (f)) et dans les globi pallidi (flèches en (g) et (h)).

3.3.10.3 Génétique

DCAF17 ou *C2orf37* est un gène qui code pour une protéine impliquée dans la régulation transcriptionnelle. La transmission est autosomique récessive.

La plupart des patients décrits sont originaires d'Arabie Saoudite, probable reflet d'un effet fondateur, bien qu'il y ait des patients d'autres ethnies (112).

Le syndrome de Woodhouse-Sakati reste très rare, et il y a peu de données physiopathologiques ou d'équipes menant des travaux de recherche à plein temps sur cette NBIA.

3.3.11 Le syndrome de Kufor-Rakeb (OMIM #606693)

3.3.11.1 Clinique

Le syndrome de Kufor-Rakeb a comme caractéristiques l'apparition précoce chez le jeune adulte enfant d'un syndrome extrapyramidal, associé à de la spasticité et un déclin cognitif. La première description a été faite dans une famille jordanienne dans les années 1990 (113). On retrouve également une paralysie supra-nucléaire et des myoclonies. L'autre nom du syndrome est PARK9.

3.3.11.2 Imagerie

L'atrophie cérébrale est constante, et visualisée dès les premiers symptômes, alors que les dépôts ferriques dans les noyaux gris centraux peuvent apparaître plus tardivement avec l'évolution de la maladie, principalement dans les noyaux caudés et lenticulaires. La Figure 24 montre l'IRM d'un patient de 40 ans, avec une atrophie cérébrale majeure, et des hypointensités des putamen et des noyaux caudés (114).

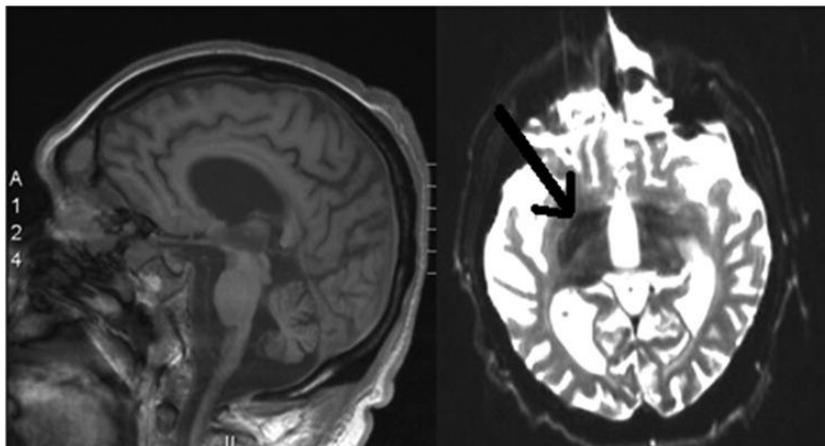


Figure 24 : IRM d'un patient atteint du syndrome de Kufor-Rakeb. Coupe sagittale pondérée T1 sur l'image de gauche, avec une atrophie sus et sous tentorielle. Coupe axiale pondérée T2* sur la droite, la flèche indique les dépôts de fer dans les putamen et les noyaux caudés

3.3.11.3 Génétique

Ce syndrome est lié à des variants pathogènes dans le gène *ATP13A2*, qui code pour une ATPase lysosomale (115). La transmission est de type autosomique récessive.

Cette protéine est une pompe à cations, qui est située sur les membranes lysosomales, ainsi que sur les membranes synaptiques et mitochondriales (116). Le rôle de cette protéine n'est pas parfaitement établi, il semblerait qu'elle joue un rôle dans la formation des autophagosomes.

3.3.11.4 Physiopathologie

Les fibroblastes de patients atteints du syndrome de Kufor-Rakeb ont des anomalies lysosomales qui se traduisent par des anomalies de la dégradation de substrats cellulaires, une

baisse de la clairance des autophagosomes et une augmentation des ions intracellulaires tels que le manganèse et le zinc (117). Les réseaux mitochondriaux sont également fragmentés, avec des altérations de l'ADN mitochondrial, un potentiel membranaire réduit et une baisse de la production d'ATP (118). Le rôle des lysosomes et des endosomes est connu pour être crucial pour l'homéostasie du fer, corroborant le lien entre cette ATP-ase et l'accumulation intracérébrale de fer.

3.3.11.5 Recherche en cours

Les modèles souris knock-out montrent une accumulation d'agrégats d' α -synucléine, une accumulation de protéines ubiquitinées, de la gliose et des troubles moteurs (119).

3.3.12 Nouveaux gènes

3.3.12.1 *SCP2* (OMIM*184755)

Il y a dans la littérature deux patients décrits ayant des variants dans *SCP2*, attribués comme pathogènes. Les tableaux cliniques sont une neuropathie motrice, une ataxie et une dystonie cervicale chez des patients âgés d'environ 50 ans, avec un tableau clinique évoluant depuis la deuxième décennie. Pour le premier patient, l'IRM retrouve une leuco-encéphalopathie, associée à des hyperintensités du pont et des thalami, alors que pour le deuxième patient, des dépôts intracérébraux de fer sont retrouvés, sans leuco-encéphalopathie (120,121).

La transmission est de type autosomique récessive. *SCP2* code pour deux protéines SCPx et SCP2 en fonction des exons transcrits, qui sont des protéines de transport des stérols. Ce sont des enzymes peroxisomales, avec une activité thiolase qui permet de casser les acides gras. Le mécanisme physiopathologique présumé est celui d'un métabolisme des acides gras et d'acyl CoA anormal (122).

3.3.12.2 *GTPBP2* (OMIM*607434)

Une famille de 4 individus a initialement été rapportée, ils présentaient une déficience intellectuelle, une ataxie et de la dystonie, ainsi qu'une dysfonction rétinienne. L'IRM cérébrale a mis en évidence des hypointensités bipallidales et de la substance noire évoquant de dépôts de fer (123). Un deuxième article paru plus récemment confirme l'implication de ce gène dans les troubles du développement sévères associés à une accumulation intracérébrale de fer, en décrivant trois familles distinctes (124)

Le mode de transmission serait autosomique récessif. Le gène *GTPBP2* code pour une protéine de liaison au GTP, dont la fonction n'est pas parfaitement connue. Cette protéine aurait un rôle possible dans l'élongation des chaînes durant la synthèse protéique. Un modèle murin *GTPBP2* KO a montré son rôle dans la maintenance du ribosome (125).

3.3.12.3 *REPS1* (OMIM#617916)

Les patients décrits présentent un retard psychomoteur, une ataxie progressive, un syndrome pyramidal, une atrophie cérébrale et cérébelleuse. L'imagerie montre une accumulation de fer dans les globi pallidi et les pédoncules cérébraux. Le gène *REPS1* est impliqué dans l'endocytose. Ce sont des complexes de RALBP1 et REPS1 qui se fixent sur les vésicules recouvertes de clathrine après leur endocytose. Ces complexes vont ensuite se fixer aux endosomes, permettant le recyclage des récepteurs de transferrine qui ont été internalisés via l'endocytose dépendante de la clathrine (126,127).

3.3.12.4 CRAT (OMIM#617917)

L'équipe du Dr Rötig a rapporté une enfant née de parents turques consanguins, qui a présenté un retard de langage, puis une ataxie cérébelleuse progressive à partir de l'âge de 3 ans. Son état clinique s'est ensuite dégradé, avec l'apparition d'un syndrome cérébelleux statique et cinétique, une hyper-réflexie, des mouvements dystoniques et choréo-athétosiques. L'IRM cérébrale a mis en évidence une atrophie cérébelleuse ainsi que des hyperintensités dans les globi pallidi et la substance noire (126).

La transmission est autosomique récessive. Ce gène est une carnitine acyltransférase, impliqué dans l'oxydation et le métabolisme lipidique. Il se situe dans la mitochondrie. Le déficit en CRAT augmente les niveaux d'acétyl-CoA et l'acétylation des résidus lysine, qui est une modification post traductionnelle des protéines, qui intervient principalement pour les protéines mitochondriales, et qui a été reliée à une dysfonction métabolique (128).

3.3.12.5 Déficit en AP4 (AP4M1, OMIM*602296)

Trois patients d'une même famille ont été rapportés par l'équipe du Pr Roubertie. Ils présentaient un retard global de développement sévère et précoce, une tétraparésie. L'IRM retrouvait des hyposignaux sur les séquences pondérées SWI dans les globi pallidi, ce qui suggère une accumulation en fer. Dans cette fratrie, un variant non-sens a été identifié à l'état homozygote chez les trois individus atteints, issus d'une grande famille marocaine avec des parents consanguins, cousins germains. *AP4M1* était déjà connu pour être responsable de paraplégie spastique complexe, avec une microcéphalie, une déficience intellectuelle, une spasticité progressive, et des traits dysmorphiques, sans accumulation intracérébrale de fer (129). Ce gène aurait un rôle dans l'autophagie, et se localiserait dans l'endosome.

3.3.12.6 KMT2B (OMIM#617284)

Le gène *KMT2B* est responsable de la dystonie type 28, de transmission autosomique dominante, qui est caractérisée par l'apparition d'une dystonie progressive dans la première décennie. Elle commence généralement au niveau des membres inférieurs, ce qui entraîne des difficultés à la marche, puis s'étend aux membres supérieurs, au cou et à la région oro-faciale. La sévérité est variable, et certains patients ont besoin d'un fauteuil roulant pour se déplacer. De nombreux patients présentent également des traits morphologiques particuliers, avec notamment un visage allongé et un nez bulbeux. La moitié des patients présente un retard de développement ou un déficit intellectuel léger, et un quart d'entre eux présente des anomalies de signal au niveau des globi pallidi, suggérant une accumulation de fer (130,131).

3.3.12.7 *MANEAL*

Le gène *MANEAL* a été décrit chez un enfant originaire d'Arabie Saoudite, né de parents consanguins, qui présentait une encéphalopathie sévère, associée à des dépôts de fer dans les globi pallidi, les corps mamillaires et les pédoncules cérébraux, ainsi qu'une atrophie cérébrale globale. Un séquençage d'exome a identifié chez lui 2 variants homozygotes dans *OSTMI*, un gène d'ostéopétrose maligne et *MANEAL*, non connu en pathologie humaine jusqu'alors. L'équipe suggère que *MANEAL* est un gène candidat dans les neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer (132).

3.4 Fer, du métabolisme normal à son accumulation

3.4.1 Métabolisme du fer

3.4.1.1 Généralités

Le fer est un métal essentiel à la vie. Le corps humain contient entre 3 et 5g de fer à l'âge adulte. 80% du fer est situé dans l'hémoglobine des globules rouges. Le fer non stocké catalyse les réactions oxydatives. Un excès ou un manque de fer sont pathologiques, de ce fait l'homéostasie du fer est très précisément régulée, à la fois au niveau de l'entrée, du stockage et de la sortie du fer (133).

3.4.1.2 Absorption du fer

L'absorption du fer se fait en plusieurs étapes, résumées sur la Figure 25. La première étape de l'absorption intestinale du fer alimentaire intervient au pôle apical des entérocytes du duodénum et de la partie haute du jéjunum. Il existe un mécanisme d'absorption adapté pour les différents types de fer présents dans les aliments (fer divalent, fer trivalent, ou fer héminique), à savoir HCP-1 (pour le fer héminique), Dcytb qui est une ferriréductase qui permet à DMT1 d'absorber le fer réduit. L'absorption de fer ne se termine que lorsqu'il est excrété dans la circulation sanguine via la ferroportine à travers la membrane baso-latérale.

Comme le fer n'est pas excrété activement par le corps, l'absorption via la ferroportine est strictement régulée par l'hepcidine, l'hormone principale de régulation de l'absorption du fer, qui limite l'absorption du fer.

De manière générale, seule une faible proportion du fer alimentaire est absorbée. L'absorption du fer peut augmenter en cas de besoin accru en fer, et dépasse rarement 3-5 mg par jour. En cas de carence en fer, l'expression des transporteurs augmente. Au contraire, lorsque la quantité de fer est suffisante ou trop importante (inflammation par exemple), la ferroportine est inhibée par l'hepcidine, de sorte que le fer présent dans les entérocytes est à nouveau éliminé dans les selles lors du renouvellement de la muqueuse gastrique. Il n'existe donc pas de mécanisme actif d'excrétion du fer (133).

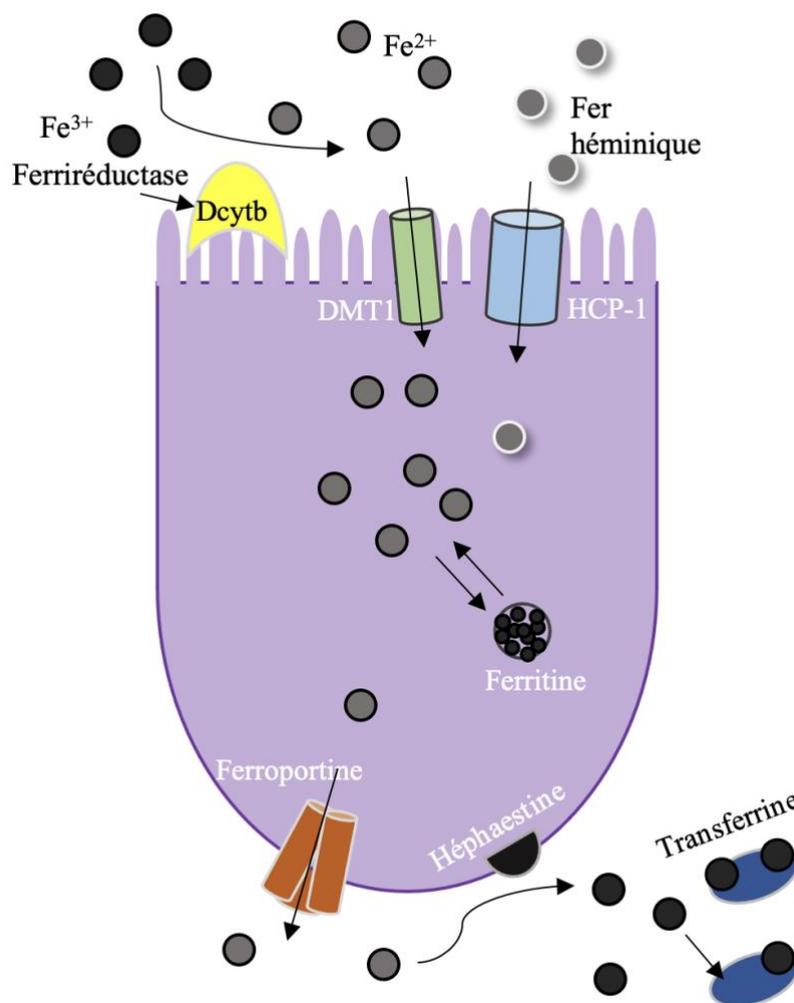


Figure 25 : Schéma de l'absorption intestinale du fer, à l'échelle d'un entérocyte

3.4.1.3 Transport du fer

Le fer rentre dans le sang via la ferroportine, située à la membrane baso-latérale de l'entérocyte. Il est sous forme bivalente, et va être oxydé par l'héphaestine. Une fois sous forme trivalente, le fer est lié à la transferrine. Chaque molécule de transferrine peut lier deux atomes de fer. Lorsque la transferrine n'est pas chargée, on parle d'apotransferrine. La transferrine transporte le fer entre les compartiments fonctionnels et de stockage. Elle a une affinité forte pour le fer ferrique Fe^{3+} , garantissant ainsi l'absence de fer libre dans la circulation sanguine, qui est hautement réactif et participe au stress oxydatif.

Le fer lié à la transferrine va ensuite rentrer dans les cellules, via le récepteur de la transferrine (TfR, *transferrin receptor*). La majeure partie des cellules expriment des récepteurs à la transferrine, qui ont une affinité très forte pour les complexes de transferrine. Le complexe transferrine ferrique/récepteur de la transferrine est ensuite internalisé par endocytose dépendante de la clathrine. Le fer est dissocié de la transferrine dans le milieu acide et réducteur

de l'endosome (entrée d'ions hydrogènes qui vont acidifier la vésicule, réduisant l'affinité du fer pour la transferrine, et permettant la sortie du fer de la vésicule par le transporteur DMT1). L'apotransferrine issue de ce mécanisme est ensuite à nouveau libérée dans la circulation sanguine, et le récepteur à la transferrine retourne à la membrane plasmatique. Le fer peut également rentrer par une voie indépendante de la transferrine, via des transporteurs membranaires (DMT1, ZIP14, ZIP8 entre autres). Les voies d'entrée du fer dans la cellule sont résumées sur la Figure 26.

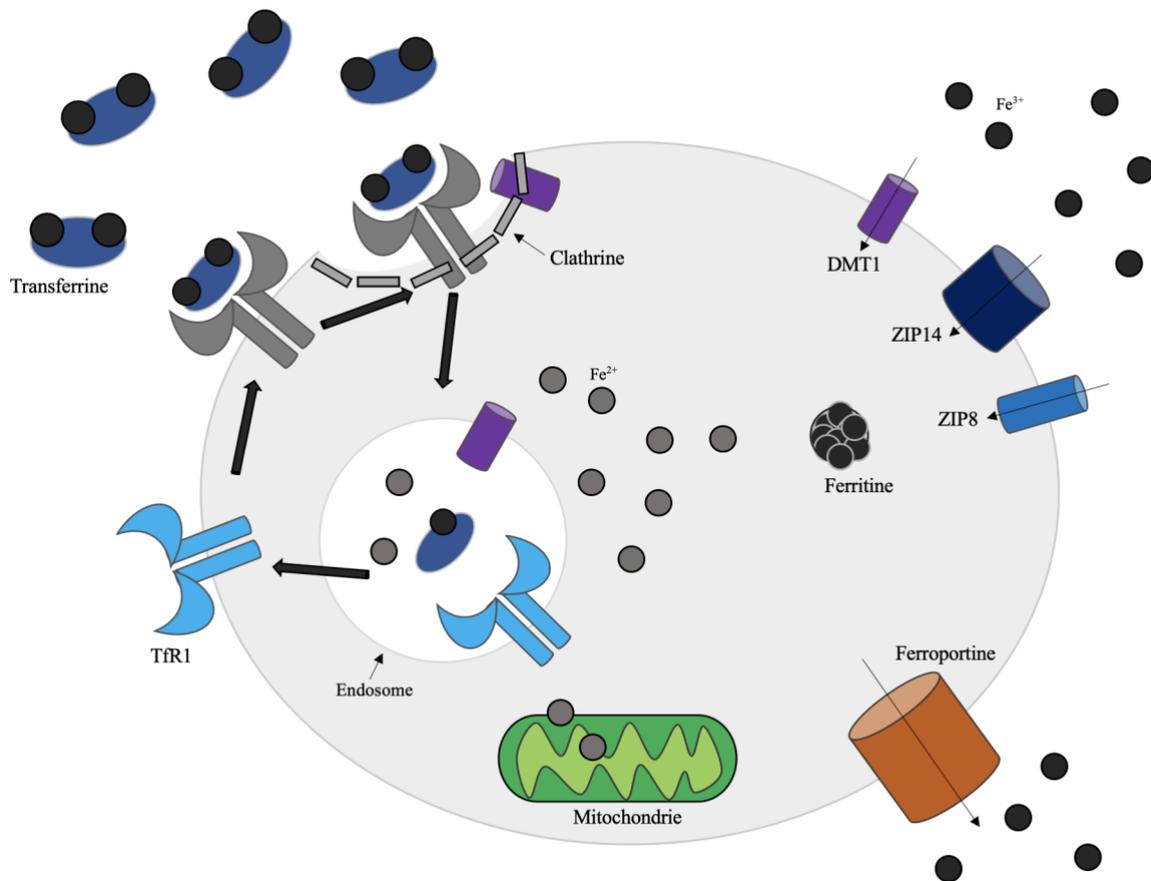


Figure 26 : représentation schématique des voies d'entrée et de sortie du fer dans une cellule

3.4.1.4 Utilisation intracellulaire du fer

Le fer libre peut être utilisé pour différentes réactions intracellulaires, comme la synthèse de l'hémoglobine, la création des clusters fer-soufre, ou est stocké grâce à la ferritine cytosolique et mitochondriale.

L'hémoglobine est une protéine avec une structure quaternaire, composée de quatre hèmes qui abritent chacune un atome de fer. La synthèse de l'hème a lieu principalement dans les lignées érythroïdes pour synthétiser l'hémoglobine, mais également dans d'autres types cellulaires, pour synthétiser d'autres hémoprotéines, comme les cytochromes de la chaîne respiratoire.

Le fer est un cofacteur essentiel pour les complexes I à IV de la chaîne respiratoire mitochondriale. Il y est utilisé sous la forme de clusters Fer-Soufre ou de fer héminique, et permet le transport des électrons tout au long de la production de l'ATP.

Le fer contribue également aux réactions oxydatives, en réagissant avec le peroxyde d'hydrogène. Ce dernier est généré dans la mitochondrie, après dismutation de l'anion superoxyde rejeté par la chaîne respiratoire mitochondriale. Le peroxyde d'hydrogène va réagir avec le fer divalent et être converti en radicaux hydroxylés via la réaction de Fenton, détaillée ci-après (les radicaux hydroxylés étant OH•) :



Les radicaux hydroxylés sont extrêmement réactifs et il n'y a pas de mécanisme cellulaire permettant de les neutraliser. Ils vont, quand ils sont dans des concentrations élevées, provoquer des dommages cellulaires irréversibles pouvant conduire à la nécrose cellulaire (134).

3.4.1.5 Stockage du fer

Le fer est stocké dans trois endroits différents dans le corps humain. Le premier compartiment est fonctionnel, il correspond au fer présent dans l'hémoglobine, la myoglobine et certains cytochromes. Ce compartiment rassemble les trois quarts du fer présent dans l'organisme.

Le deuxième compartiment de stockage est hépatique, dans les hépatocytes et macrophages hépatiques. Il s'agit d'un compartiment facilement mobilisable.

Enfin, le reste du fer est situé sur la molécule de transport qu'est la transferrine.

3.4.1.6 Régulation du métabolisme du fer

Les protéines régulatrices du fer (IRP, *iron regulatory protein*), également appelées IRE-BP pour *Iron Responsive Element Binding Protein* sont des protéines capables de se fixer sur une partie spécifique de l'ARN messager nommé élément de réponse au fer ou IRE (*iron responsive element*). Il existe deux formes distinctes d'IRP : IRP1 et IRP2. Ces protéines sont un des acteurs principaux dans la régulation du métabolisme du fer (135).

IRP1 est une protéine bifonctionnelle. En présence de fer, elle se complexe avec un cluster fer-soufre (Fe_4S_4) et devient l'aconitase de type 1 (ACO1). Quand la concentration en fer est trop basse, l'IRP1 peut se fixer aux IRE grâce au site laissé vacant par le cluster (Figure 28).

IRP2 est une protéine qui se fixe aux IRE dans un contexte de carence en fer. En présence de fer, elle est stabilisée par FBXL5, une ligase qui se lie aux clusters fer-soufre, puis ubiquitinée et dégradée, empêchant sa liaison aux IRE.

Les IRE, quant à eux, sont des motifs de nucléotides sur l'ARNm, situés en région 5'UTR ou 3'UTR, contenant la séquence de nucléotides CAGUGN, et peuvent former des structures en

épingle à cheveux (Figure 27). Ils sont entre autres présents sur les ARNm codant pour des protéines impliquées dans la régulation de la concentration intracellulaire du fer : la ferritine, la ferroportine, le récepteur de la transferrine TfR1, le transporteur du fer DMT1, l'enzyme ALAS2, l'aconitase ACO2 et l'enzyme CDC14A.



Figure 27 : structure d'un IRE, comprenant le motif CAGUGN

Les IRP modulent l'expression de certaines protéines sus citées en se liant aux IRE, et en inhibant ou favorisant la traduction de ces ARN messagers.

Ces séquences sont situées dans la région 5'-UTR des ARNm des chaînes lourdes et légères de la ferritine, et de la ferroportine, qui permettent respectivement le stockage et la sortie du fer de la cellule. Pour le récepteur à la transferrine et DMT1, ces séquences sont situées dans leur région 3'-UTR.

Dans les cellules carencées en fer, IRP1 et IRP2 sont actifs. La liaison des IRP aux IRE situés en 3'UTR des ARNm de TfR1 et DMT1 les protège la dégradation et permet d'augmenter leur traduction, augmentant l'entrée du fer dans la cellule. A l'inverse, l'interaction entre les IRP et les motifs IRE en 5'UTR des ARNm de la ferroportine, et des chaînes de la ferritine empêche leur traduction, et permet donc d'éviter la sortie du fer de la cellule et son stockage.

En cas d'excès de fer, celui-ci va se lier aux IRPs. IRP1 liera un complexe fer soufre et ne pourra aller se lier aux IRE. IRP2 quant à elle va se complexer avec FBXL5 et un cluster fer-soufre, et être dégradée par le protéasome.

Les ARN messagers avec des motifs IRE en 3'UTR vont être dégradés par des RNase, il n'y aura donc pas de traduction de récepteur à la transferrine et de DMT1. A l'inverse, les ARNm avec des motifs IRE en 5'UTR vont être traduits, augmentant les protéines de stockage et d'export du fer (Figure 28).

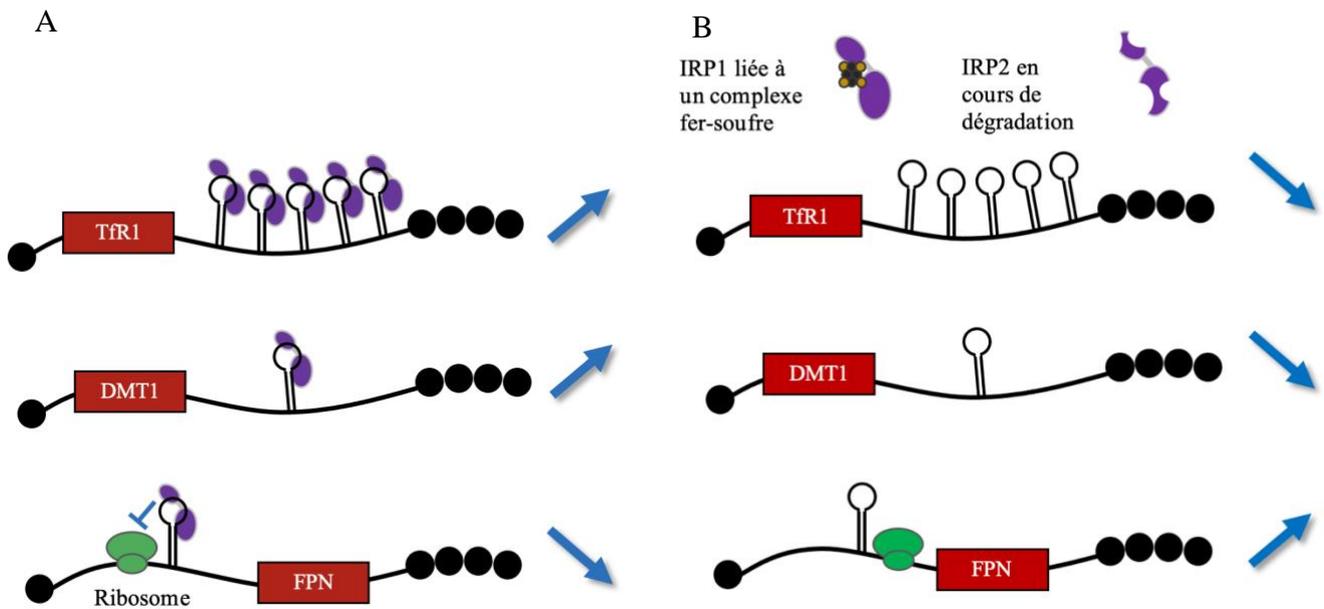


Figure 28 : Rôle des interactions IRE-IRP sur la traduction des ARNm en fonction de la quantité de fer intracellulaire. (A) : situation de carence en fer. (B) : situation d'excès de fer.

Les interactions IRE-IRP sont donc des mécanismes actifs à la fois en situation de carence et d'excès de fer, permettant une régulation post transcriptionnelle des protéines d'import, de stockage et d'export du fer. Une dérégulation de ce mécanisme IRE-IRP est une des hypothèses pouvant expliquer l'accumulation de fer pathologique, chez des cellules qui contiennent déjà du fer en excès (136).

3.4.2 Fer et cerveau

Le fer est un métal essentiel au cerveau, qui contient en conditions physiologiques entre 30 et 40mg de fer, ce qui en fait le métal cérébral le plus abondant. Le niveau de fer intracérébral n'est pas corrélé au niveau systémique de fer (137).

Le fer a de nombreux rôles dans le cerveau, entre autres la synthèse de la myéline, le métabolisme de neurotransmetteurs, le développement de synapses en réagissant avec des protéines dépendantes du fer, etc.

3.4.2.1 *Entrée du fer dans le cerveau*

L'entrée du fer dans le cerveau est limitée par la barrière hématoencéphalique, faite de jonctions serrées entre les cellules endothéliales des vaisseaux. Il existe des récepteurs à la transferrine dans la lumière des vaisseaux, qui viennent capturer les complexes fer-transferrine. Ils sont ensuite endocytosés et permettent l'entrée de fer dans le cerveau.

3.4.2.2 *Répartition du fer dans le cerveau*

Les pieds des astrocytes sont proches de la barrière hématoencéphalique, ces cellules ont des capacités de stockage et probablement de redistribution du fer aux différents compartiments du cerveau. Le fer est très peu stocké dans les neurones, ou il est utilisé dans le transport axonal et dendritique en faibles quantités, des quantités élevées étant toxiques et conduisant à une mort neuronale et une dégénérescence axonale. Le fer est principalement localisé dans les oligodendrocytes, sous forme de ferritine. Les oligodendrocytes sont également les cellules impliquées dans la synthèse de la myéline, et les carences sévères en fer ont été associées à des hypo-myélinisation, confortant le rôle du fer dans la synthèse de la myéline (138).

3.4.3 Dérégulation du métabolisme du fer : exemples pathologiques

3.4.3.1 *Carence en fer*

La carence en fer, ou carence martiale, est la première cause d'anémie (baisse du nombre de globules rouges). Le bilan sanguin d'un patient en carence martiale est caractéristique, la ferritine est abaissée, le fer sérique diminué, la transferrine et la capacité totale de fixation de la transferrine sont augmentées.

Les étiologies de la carence martiales sont nombreuses, les plus fréquentes étant les carences d'apport, et les excès de perte, par saignements digestifs ou gynécologiques. Elles peuvent également être liées à des défauts d'absorption. Le traitement est étiologique, associé à une supplémentation en fer par voie orale ou systémique.

Les maladies chroniques avec inflammation peuvent également conduire à des carences en fer. La voie IL6/STAT3, stimulée en conditions pro-inflammatoires, augmente la production d'hepcidine, qui va promouvoir la rétention de fer dans les macrophages et baisser l'absorption du fer alimentaire (139).

3.4.3.2 *Surcharge en fer*

3.4.3.2.1 Surcharge systémique

Les surcharges en fer systémiques sont regroupées dans deux groupes de pathologies, celles liées à la voie hepcidine/ferroportine, avec le grand groupe des hémochromatoses, et celles non liées à cette voie, de causes variées. On peut notamment citer dans les causes exogènes les transfusions itératives qui conduisent à des surcharges en fer, ou les hépatites virales, alcooliques et métaboliques.

Les hémochromatoses héréditaires sont un groupe de maladies liées à des anomalies génétiques dans la voie de synthèse de l'hepcidine, conduisant une absence d'inhibition de l'absorption de fer. L'expression clinique est variée, principalement hépatique et cardiaque avec des signes de surcharge ferrique, mais peut également être endocrinienne, neurologique ou articulaire (139). L'acéruléoplasminémie, détaillée précédemment, est une NBIA avec une accumulation systémique de fer, notamment dans le foie et le pancréas.

L'autre exemple particulièrement intéressant de surcharge systémique en fer avec également une atteinte neurologique est l'ataxie de Friedreich. C'est une maladie génétique, de transmission autosomique récessive, qui est caractérisée par une ataxie cérébelleuse progressive, une aréflexie, une hypertrophie myocardique et un diabète, dont l'âge de début se situe autour de l'adolescence. Le mécanisme physiopathologique est un défaut de la protéine frataxine, qui est une protéine mitochondriale impliquée dans la formation des clusters fer-

souffre. Les patients présentant une ataxie de Friedreich ont une accumulation de fer à la fois dans le cytosol et dans la mitochondrie, du fait d'une mauvaise régulation de l'entrée du fer lié à la transferrine et non lié à la transferrine (voies d'entrées TBI et NTBI dérégulées). L'accumulation de fer se fait dans le myocarde, et le cerveau notamment. Des avancées très récentes sur le plan de la compréhension du mécanisme d'accumulation du fer dans l'ataxie de Friedreich ont été détaillées dans l'article de Petit *et al.*, avec des perspectives de parallélismes avec les NBIA (140). Les mécanismes de régulation du fer dans la maladie de Friedreich sont dérégulés à plusieurs niveaux, résultant en une incapacité à limiter l'entrée de fer dans la cellule, par une augmentation des récepteurs à la transferrine et des transporteurs NTBI, et également une incapacité à stocker le fer et à le faire sortir de la cellule, via une baisse de la ferritine et de la ferroportine.

3.4.3.2.2 Surcharge localisée au système nerveux central

On retrouve dans de nombreuses pathologies neurodégénératives des excès de fer pathologiques dans le cerveau, notamment dans la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique, la maladie de Huntington, les NBIA, entre autres. Les accidents vasculaires cérébraux ischémiques et hémorragiques conduisent également à des accumulations de fer intracérébral. La surcharge en fer intracérébrale augmente le stress oxydatif et contribuerait à la perte neuronale présente dans ces pathologies (141).

Le fer s'accumule également de façon physiologique dans le cerveau avec l'âge. Cette accumulation serait en partie liée à l'augmentation de la perméabilité de la barrière hématoencéphalique.

Pour la maladie de Parkinson, il a été montré que le fer s'accumule dans les noyaux gris centraux et la substance noire, et que ces niveaux trop élevés de fer conduisent à la formation de radicaux hydroxylés, qui altèrent les mitochondries et l'ADN, et catalysent l'oxydation de la dopamine (142). Le fer en excès augmenterait également le nombre d'agrégats d' α -synucléine, et stimulerait la production du peptide β -amyloïde (143).

4 RESULTATS

4.1 Patients avec un diagnostic génétique à l'issue du panel

4.1.1 Généralités

Depuis la mise en du séquençage des exons 3 et 4 de *FTL* en 2004, et de *PANK2* en 2011, puis du panel NBIA à Bordeaux en 2014, 232 patients ont pu bénéficier d'analyses génétiques ciblées sur des gènes de NBIA. Le recueil de données s'arrête au 7 mai 2021, et n'inclut donc pas les patients ayant bénéficié d'une analyse après cette date. Cinquante-sept ont eu un séquençage des exons 3 et 4 de *FTL* et/ou de *PANK2* dans son intégralité, 175 ont eu un séquençage à haut débit de 9 principaux gènes de NBIA, complété d'un séquençage Sanger des exons et des jonctions intron-exon de l'exon 2 de *PANK2*, de l'exon 4 de *PLA2G6*, de l'exon 1 de *FA2H*, de l'exon 9 de *CP*, et des exons 1, 7, 9, 10 et 21 d'*ATP13A2*. Les analyses ont pu, en fonction des données retrouvées en NGS, être complétées par une CGH-array ciblée sur *PANK2*.

Parmi ces 232 patients, le diagnostic moléculaire de NBIA a pu être établi pour 63 (27%). La répartition en fonction du gène est résumée sur la Figure 29.

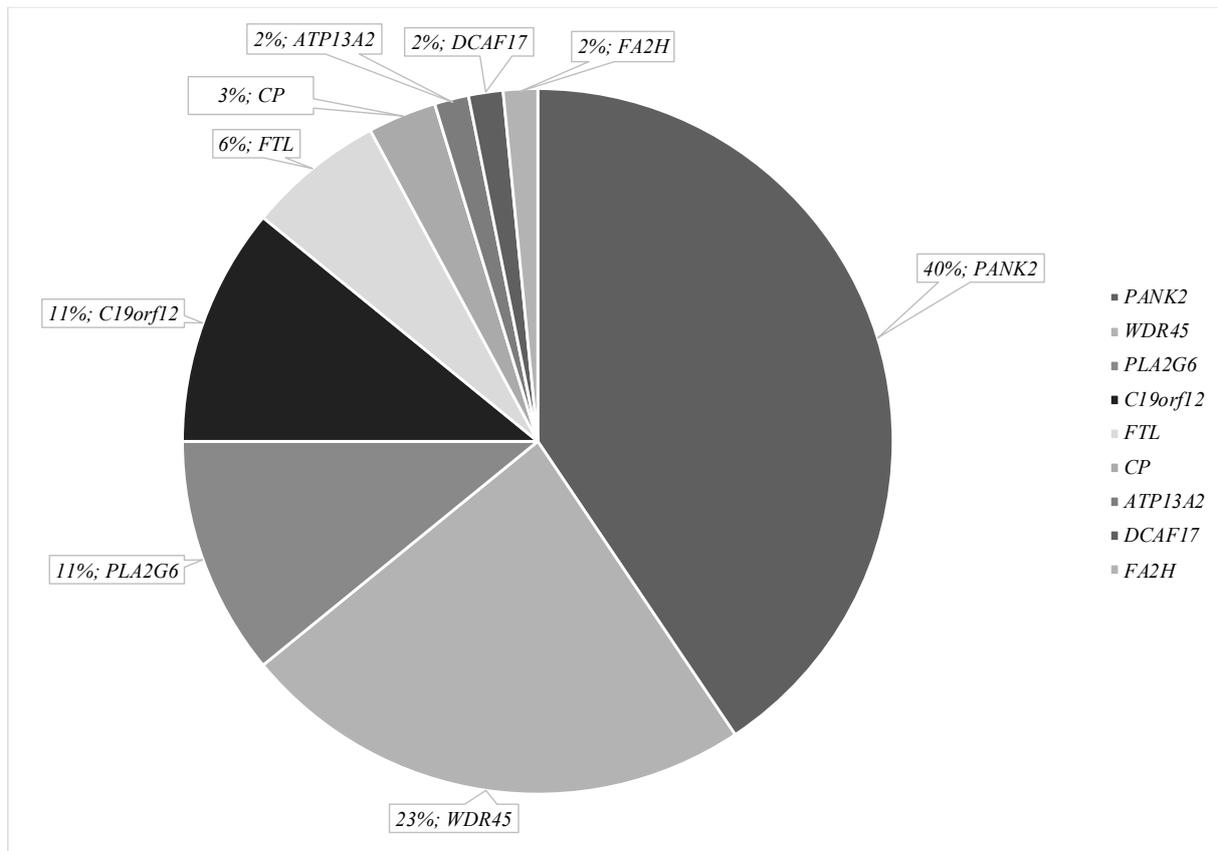


Figure 29 : pourcentage de patients en fonction du gène dans la série bordelaise

4.1.2 Caractéristiques cliniques, paracliniques et génétiques

4.1.2.1 Gène *ATP13A2*

Une patiente était présente dans notre série. L'âge des premiers symptômes était de 6 ans, avec une déficience intellectuelle, puis à 12 ans de l'apparition de troubles moteurs, avec une ataxie et une hypertonie pyramidale. L'IRM mettait en évidence des dépôts dans les noyaux gris centraux, ainsi qu'une atrophie cortico-sous-corticale diffuse sus et sous tentorielle. Le variant retrouvé est une délétion d'une base à l'état homozygote, entraînant un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré.

4.1.2.2 Gène *C19orf12*

Sept patients étaient présents dans la série. L'âge de début moyen était de 12 ans, avec deux catégories de patients, ceux débutant autour de 10 ans (n=4) et ceux à l'âge adulte (n=3).

Les données génétiques étaient intéressantes, puisque 4 familles de cette cohorte (regroupant 8 patients, dont 5 analysés dans le laboratoire du CHU de Bordeaux), présentaient des variants à l'état hétérozygote dans le gène *C19orf12*, gène jusqu'alors connu pour être de transmission récessive.

Pour les patients avec des variants présents à l'état homozygote, l'âge de début de la maladie était dans l'enfance, autour de 10 ans. Les symptômes initiaux étaient des troubles moteurs, à type de dystonie, associés ou non à une hypertonie pyramidale puis des troubles cognitifs. Les IRM cérébrales de ces patients retrouvaient des hyposignaux T2 bipallidaux, associés à une atrophie cérébelleuse pour un des patients, qui présentait entre autres comme symptômes une ataxie. Une atrophie des nerfs optiques était également notée. Les variants identifiés étaient un faux-sens, et des non-sens créant l'apparition d'un codon stop prématuré, dans l'exon 3 (gène de 3 exons).

Pour les patients avec des variants dans *C19orf12* à l'état hétérozygote, les présentations cliniques étaient plus variables, avec des âges de début tardifs pour certains patients, une présentation de type atteinte du premier motoneurone / démence frontotemporale, et des atteintes plus neurodéveloppementales et motrices chez les patients débutant leur maladie dans l'enfance. Les variants retrouvés étaient principalement des non-sens dans l'exon 3, ou, pour un patient, une délétion avec décalage du cadre de lecture et apparition d'un codon stop dans l'exon 3. Ces variants créent donc tous l'apparition d'un codon stop prématuré, échappant probablement au mécanisme de « *non-mediated decay* ». Pour une des patientes, le variant était présent à l'état mosaïque, dans 44% de ses lymphocytes sanguins. Son atteinte clinique était plus modérée, avec des troubles de la marche ayant débuté à l'âge de 40 ans.

Une analyse neuropathologique du cerveau d'un des patients a été réalisée. Il s'agissait d'un patient ayant débuté une démence frontotemporale à l'âge de 40 ans, avec des signes d'atteinte chronique du motoneurone à l'électromyogramme. Son IRM mettait en évidence une atrophie diffuse. L'analyse post mortem de son cerveau a retrouvé l'atrophie globale au niveau de l'analyse macroscopique, ainsi qu'une pâleur de la substance noire et du locus ceruleus. L'analyse microscopique a retrouvé une perte neuronale diffuse, des corps de Lewy et des axones sphéroïdes dans les putamen, les noyaux caudés, les thalami, la substance noire et le locus ceruleus (Figure 30). Une coloration au bleu de Prusse a retrouvé du fer dans les globi pallidi.

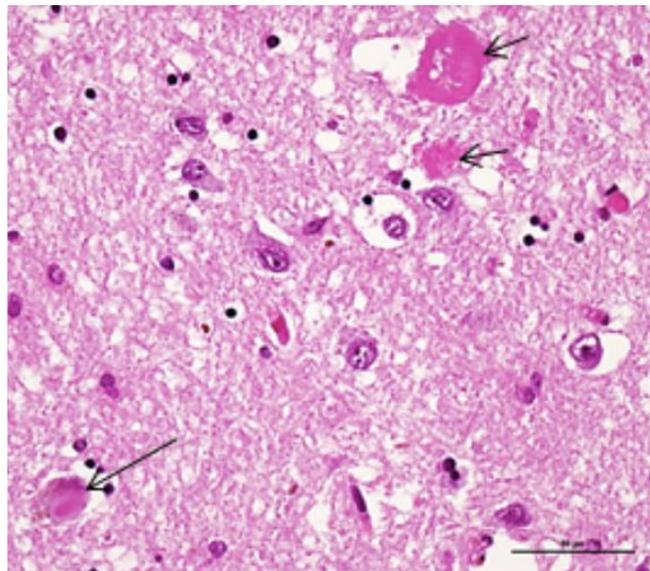


Figure 30 : Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine de la substance noire. La flèche longue indique un corps de Lewy et les flèches courtes des axones sphéroïdes.

4.1.2.3 Gène CP

Deux patientes étaient présentes dans la série. La première patiente a présenté ses premiers symptômes autour de 50 ans, avec une ataxie à la marche, un diabète et une anémie. Son IRM cérébrale retrouvait des hypersignaux T2* des noyaux dentelés, des globi pallidi et des noyaux sous-thalamiques. Le bilan sanguin retrouvait une céruléoplasminémie effondrée à 0,02g/L (normes : 0,22-0,6g/L), de même que le cuivre sérique libre, qui était à 0,8 μ mol/L (normes : 12-25 μ mol/L). Le variant identifié dans CP était un non-sens. Les renseignements clinico-biologiques n'étaient pas disponibles pour la deuxième patiente, adressée pour un diagnostic prénatal, suite à la découverte en exome d'un variant pathogène dans CP.

4.1.2.4 Gène DCAF17

Un patient était rapporté dans la série, il s'agissait d'un homme ayant eu un retard psychomoteur noté à l'âge de 3 ans, et qui a développé par la suite des mouvements anormaux de type dystonie,

une ataxie, et une hypertonie pyramidale. Il était également diabétique. Son IRM cérébrale retrouvait des dépôts dans les noyaux lenticulaires ainsi que des anomalies de la substance blanche à type d'hypersignaux péri-ventriculaires. Le variant retrouvé à l'état homozygote dans *DCAF17* était une délétion d'une base entraînant l'apparition d'un codon stop prématuré.

4.1.2.5 Gène *FA2H*

Une patiente était rapportée dans la série, ses premiers symptômes ont débuté à l'âge de 5 ans, avec un déclin cognitif, des mouvements dystoniques et des crises convulsives. L'examen clinique mettait également en évidence une hypertonie pyramidale et extrapyramidale. L'IRM cérébrale réalisée retrouvait une leucodystrophie et une atrophie du tronc cérébral. Deux variants faux-sens ont été identifiés dans le gène *FA2H*, présents à l'état hétérozygote composite.

4.1.2.6 Gène *FTL*

Quatre patients étaient rapportés dans la série, dont un père et son fils. L'âge de début était entre 30 et 55 ans, avec comme symptômes initiaux des mouvements dystoniques, un syndrome cérébelleux statique et cinétique, et des difficultés exécutives et attentionnelles survenant dans un second temps. La ferritine était rapportée pour deux patients, elle était à 19 et 49 μ g/L (normes 20-200 μ g/L). L'IRM cérébrale était disponible pour un patient et montrait des hyposignaux des globi pallidi, de la substance noire, des noyaux rouges, des noyaux dentelés et également des dépôts de fer rolandiques. Les variants retrouvés étaient des duplications d'une ou deux bases, entraînant des décalages du cadres de lecture et des codons stop en aval du codon stop du transcrit classique.

Le père et son fils faisaient partie d'une famille avec 11 individus atteints, sur 4 générations différentes. Dans cette famille, un tremblement postural des membres supérieurs était le premier symptôme pour 4 patients, dont le père et son fils, et une dysarthrie associée à une ataxie cérébelleuse était le premier symptôme pour 3 patients. Les dépôts de fer visibles à l'imagerie étaient situés dans les noyaux gris centraux, mais également dans le cervelet et le cortex cérébral pour le fils.

Un patient de la série avait une présentation atypique de neuroferritinopathie, avec un début focal des symptômes et des dépôts de fer asymétriques sur l'IRM. Ses premiers symptômes sont apparus à l'âge de 27 ans avec une dystonie permanente du pied droit. Les symptômes se sont ensuite complétés avec un antérocollis lié à une dystonie du tronc, une dystonie du membre supérieur droit à la marche, une rétraction des orteils droits et une hyper-extension intermittente de l'hallux droit entre autres. Ses symptômes sont restés très stables pendant plus de 10 ans, et

sa seule plainte était sa dystonie du pied droit. A l'âge de 40 ans, sa dystonie axiale s'est aggravée, une dysarthrie et dysphagies sont apparues, avec des symptômes dystoniques et choréïques, plus prononcés à la marche. Une dégradation cognitive à cet âge a également mis en évidence une dysfonction exécutive modérée, avec une lenteur, et des difficultés attentionnelles. Son IRM cérébrale, présentée sur la Figure 31, montre des dépôts dans les globi pallidi, plus prononcés à gauche, s'aggravant au fil de du temps, avec une cavitation macro et microkystique des noyaux caudés, ainsi que l'apparition de dépôts au niveau des noyaux rouges et de la substance noire, cette fois symétriques. Une atrophie corticale et sous corticale modérée a également été notée sur les IRM de suivi. Il présentait sur les examens biologiques une hypoferritinémie à 49 μ g/L (norme basse du laboratoire à 80). Le séquençage de l'exon 4 de *FTL* a retrouvé une duplication d'une base (NM_000146.3 : c.468dup, p.Gly157TrpfsX24), entraînant un transcrit plus long que celui de référence.

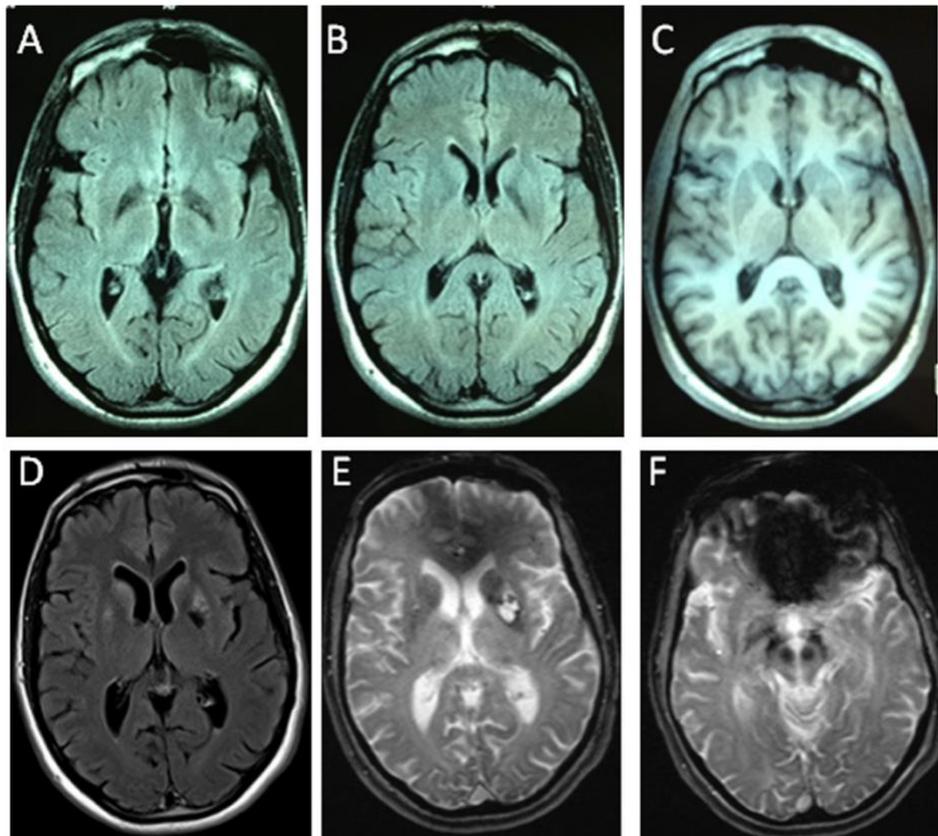


Figure 31 : coupes axiales d'IRM à l'âge de 35 ans (A, B, C) et de 42 ans (D, E, F). Séquences pondérées FLAIR en (A), (B), (D) et T2* (C), (E), (F).

4.1.2.7 Gène *PANK2*

Vingt-six patients étaient présents dans la cohorte. L'âge de début moyen était de 11,4 ans, avec une médiane à 6 ans (un cas tardif avec un âge de début à 45 ans). Des mouvements dystoniques étaient les symptômes initiaux les plus fréquemment rapportés, chez 15 patients. Les autres symptômes fréquents dans l'évolution de la maladie étaient un déclin cognitif (n=10), une hypertonie pyramidale (n=12) et extrapyramidale (n=17). On retrouvait également de manière un peu plus rare une ataxie (n=9), et plus fréquemment une dysarthrie (n=13), pouvant aller jusqu'à l'anarthrie. L'IRM cérébrale retrouvait une image en œil de tigre pour 17 de ces patients, et des hyposignaux bipallidiaux pour les autres. Six patients avaient un stimulateur bipallidal au moment de la réalisation du panel, du fait des mouvements dystoniques invalidants.

Plusieurs types de variants ont été identifiés, principalement des faux sens à l'état homozygote ou hétérozygote composite. Quelques variants non-sens (n= 7) ont été retrouvés, en trans d'un faux sens, ou à l'état homozygote chez deux sœurs. Une délétion de 21kb emportant le premier exon du gène *PANK2* (gène de 7 exons), présente à l'état homozygote, a été rapportée. Deux variants d'épissage ont également été retrouvés.

4.1.2.8 Gène *PLA2G6*

Six patients étaient rapportés dans la série bordelaise, avec moyenne de 8,5 ans pour l'âge des premiers symptômes, et une médiane à 5 (il y avait un cas atypique ayant débuté à 31 ans, l'ensemble des autres patients ayant débuté leur maladie avant 6 ans). Les symptômes retrouvés étaient un retard des acquisitions ou un déclin cognitif précoce, associés à des symptômes cérébelleux (dysarthrie et ataxie). Des troubles visuels ont été retrouvés chez un patient.

Les IRM cérébrales retrouvaient des hyposignaux T2 des globi pallidi et de la substance noire, ainsi qu'une atrophie cérébelleuse, et ce chez l'ensemble des patients pour qui l'IRM était disponible (n=4). Une image en œil de tigre était présente chez un des patients.

Les variants identifiés étaient des faux sens à l'état homozygote ou hétérozygote composite, ainsi qu'un variant d'épissage identifié chez un des patients, en trans d'un variant faux sens, pour le patient ayant débuté sa maladie à l'âge de 31 ans. Ce patient avait une forme très atypique du fait de cette présentation clinique tardive, avec des symptômes cérébelleux (ataxie, tremblement postural, dysarthrie débutant à 31 ans), et également des mouvements dystoniques et une hypertonie extrapyramidale notés à l'examen clinique. L'IRM, présentée sur la Figure 32, retrouve des hyposignaux T2 des globi pallidi et de la substance noire, ainsi qu'une atrophie cérébelleuse, difficile à évaluer sur les coupes présentées mais bien notée. Un séquençage de l'ARN messager de *PLA2G6* chez ce patient va être réalisé.

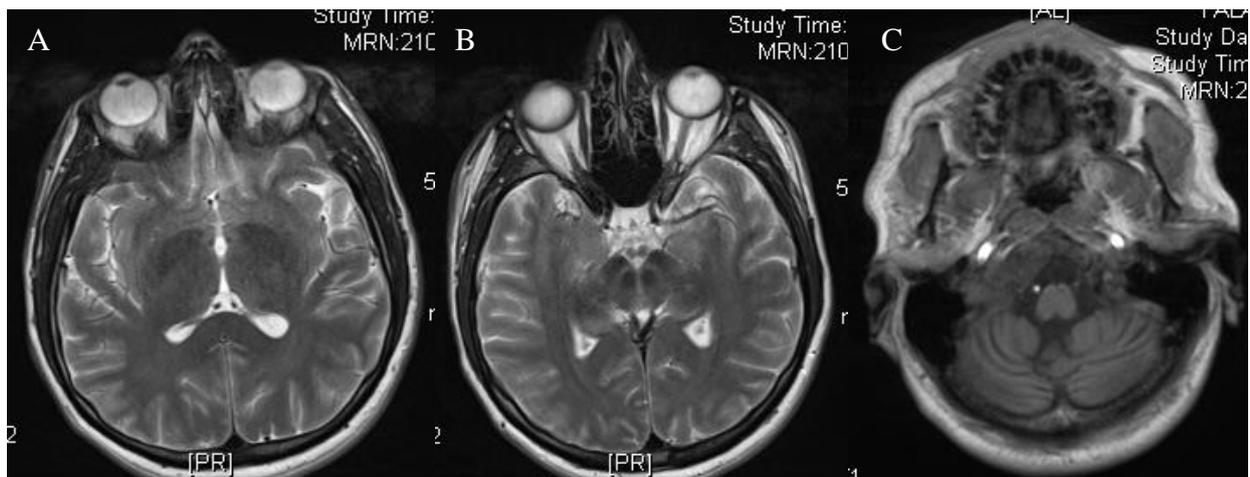


Figure 32 : coupes axiales T2 (A et B) et T1 (C), montrant les dépôts dans les globi pallidi (A), la substance noire (B) et l'atrophie cérébelleuse (C)

4.1.2.9 Gène WDR45

Quinze patients étaient rapportés dans la série bordelaise, avec 11 femmes et 4 hommes. L'âge de début moyen était de 2,6 ans. Les symptômes initiaux étaient généralement un retard des acquisitions psychomotrices. L'examen clinique au moment du diagnostic était anormal, avec une hypertonie pyramidale et extrapyramidale (n=6, les renseignements cliniques étant disponibles pour 8 patients). Un déclin cognitif et des troubles psychiatriques étaient renseignés pour respectivement 3 et 5 patients. L'évolution en deux temps de la maladie n'était donc pas rapportée pour toutes les patientes, du fait de leur jeune âge lors de la réalisation du panel.

Les IRM cérébrales étaient disponibles pour 5 patients, 3 femmes et 2 hommes. Pour une des patientes, une première IRM avait été réalisée à l'âge de 10 ans et était normale, puis une seconde, réalisée à l'âge de 18 ans, a retrouvé des hyposignaux des globi pallidi et de la substance noire. Pour les deux autres patientes, l'IRM mettait en évidence des hyposignaux T2 des globi pallidi et de la substance noire. L'âge à la réalisation de l'IRM n'était pas renseigné. Pour les deux patients masculins où l'IRM était disponible, celle du premier patient retrouvait un hyposignal T2 des globi pallidi et de la substance noire (Figure 33), et pour le deuxième une atrophie cortico-sous-corticale, des hypersignaux de la substance blanche, et une atrophie du corps calleux (la présence de fer dans les noyaux gris centraux n'était pas renseignée pour ce patient).

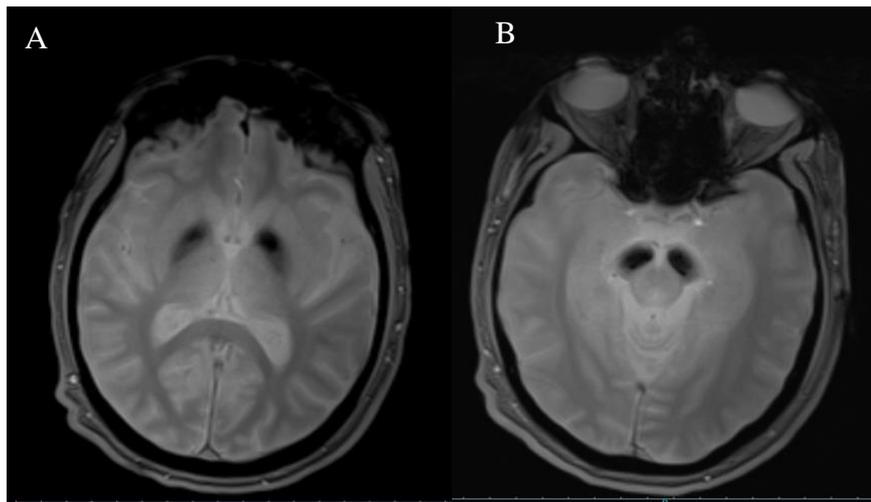


Figure 33 : coupes axiales pondérées écho de gradient, montrant des dépôts dans les globi pallidi (A) et la substance noire (B)

Plusieurs types de variants ont été identifiés. Chez les femmes, on retrouvait :

- 2 variants faux-sens
- 4 variants non-sens
- 5 variants d'épissage, prédits pour abolir des sites donneurs ou accepteurs d'épissage

Ces variants étaient présents *de novo* quand la ségrégation avait pu être réalisée. Un biais d'inactivation de l'X était également constant quand il était recherché (n=8).

Chez les hommes de la série, on retrouvait 1 variant affectant le premier nucléotide chez deux patients (c.1A>G, p. ?), un variant faux-sens, et une délétion de deux paires de bases dans l'intron 8 à l'état de mosaïque, présente chez 2 frères jumeaux, avec seulement l'un des deux atteint au moment du diagnostic (mosaïque à 79% de ses lymphocytes sanguins, versus 56% pour son frère non atteint).

Des variants atypiques ont également été identifiés par le panel chez une patiente, il s'agissait d'une femme avec une déficience intellectuelle sévère, n'ayant pas acquis le langage, qui présentait une ataxie, une hypertonie pyramidale et des mouvements dystoniques. L'IRM mettait en évidence une image en œil de tigre à l'âge de 31 ans. Elle avait 45 ans au moment du diagnostic génétique. Celui-ci a mis en évidence un variant d'épissage dans *WDR45*, entraînant un décalage du cadre de lecture, et un saut de l'exon 11 (vérifié par séquençage ARN), associé à un biais d'inactivation de l'X évalué à 87%, ainsi qu'un variant faux sens dans *PLA2G6*, présent à l'état hétérozygote, déjà rapporté comme pathogène à deux reprises sur ClinVar (RCV000853336.1 et RCV000255821.1).

4.1.2.10 Résumé des données de la série bordelaise

Gène	<i>ATP13A2</i>	<i>C19orf12</i>	<i>CP</i>	<i>DCAF17</i>	<i>FA2H</i>	<i>FTL</i>	<i>PANK2</i>	<i>PLA2G6</i>	<i>WDR45</i>
Nombre de patients dans la série bordelaise (%)	1 (2%)	7 (11%) (dont 5 cas atypiques exclus)	2 (3%)	1 (2%)	1 (2%)	4 (6%) (1 cas atypique)	26 (40%)	6 (11%) (1 cas atypique exclu)	15 (23%) (11 femmes dont 1 cas atypique et 4 hommes)
Age moyen aux premiers symptômes	6	10	50	3	5	39	11 (médiane à 6, 1 cas tardif à 45 ans)	5	2,6
Symptômes initiaux les plus fréquents	Déficience intellectuelle, puis troubles moteurs dans un second temps	Dystonie et troubles moteurs autres, puis déclin cognitif	Ataxie, diabète et anémie	Retard des acquisitions puis mouvements anormaux	Déclin cognitif, mouvements dystoniques et crises convulsives	Mouvements dystoniques, syndrome cérébelleux	Mouvements dystoniques	Retard des acquisitions + syndrome cérébelleux	Retard des acquisitions
Localisation des dépôts de fer à l'IRM cérébrale	Noyaux gris centraux sans précisions supplémentaires	Globi pallidi	Globi pallidi, noyaux dentelés, noyaux sous thalamiques	Globi pallidi et putamen	Non renseigné	Globi pallidi, substance noire, noyaux rouges et noyaux dentelés	Œil de tigre pour 17 patients	Globi pallidi et substance noire	Globi pallidi et substance noire

Autres données de l'IRM cérébrale	Atrophie diffuse	/	/	Hyper-signaux de la substance blanche péri-ventriculaire	Leuco-dystrophie et atrophie du tronc cérébral	/	/	1 patient avec une image en œil de tigre	1 patiente avec une image en œil de tigre
Variants retrouvés dans la série	Délétion d'une base	Variants faux sens et duplication d'une base	Non-sens	Délétion d'une base	Faux-sens	Duplication d'une ou deux bases	Faux sens principalement, 7 non-sens, 1 délétion d'un exon, 2 variants d'épissage	Faux sens	Non-sens et épissages principalement, et 2 faux sens
Autres données	/	/	Céruleo-plasminémie effondrée	Diabétique	/	Hypoferritinémie	Stimulateur bipallidal chez 6 patients	/	4 hommes, avec dépôts de fer bipallidaux et de la substance noire pour 1 des patients
Nombre d'articles dans la littérature (%)	50 (6,9%)	50 (6,9%)	37 (5%)	27 (3,8%)	17 (2,4%)	72 (10%)	229 (32%)	155 (22%)	80 (11%)

Tableau 1 : données cliniques et paracliniques des patients de la série bordelaise avec un diagnostic moléculaire de NBIA

4.2 Patients sans diagnostic génétique à l'issue du panel

4.2.1 Généralités

Parmi les 232 patients de la série, le diagnostic moléculaire n'a pas pu être établi pour 169 (73%). Les caractéristiques de ces 169 patients sont présentées dans les paragraphes suivants.

4.2.2 Caractéristiques cliniques

L'âge des premiers symptômes est connu pour 137 patients de la cohorte. L'âge moyen des premiers symptômes est de 40,9 ans (n=137).

La répartition des âges des patients lors des premiers symptômes est présentée dans la Figure 34, l'âge étant indiqué en abscisses et le nombre de patients en ordonnées.

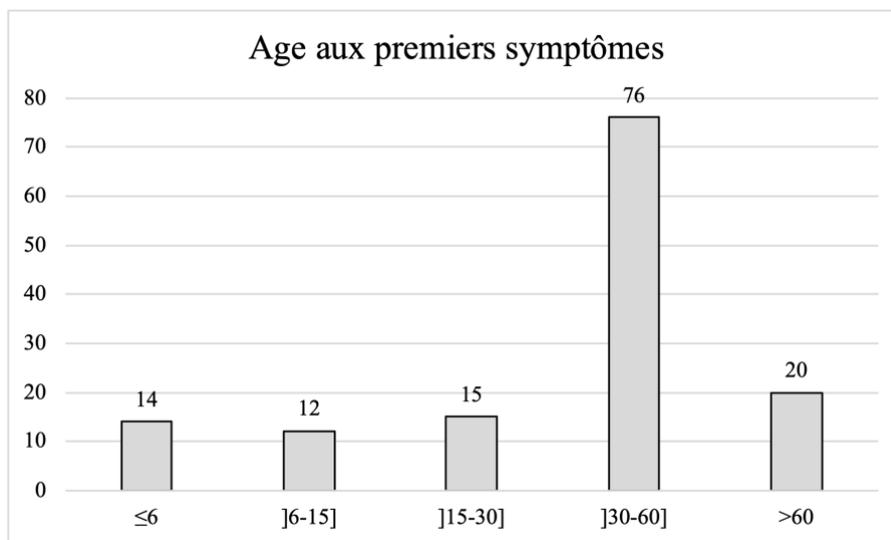


Figure 34 : répartition des âges des patients lors de la réalisation du panel NBIA

Il y a une légère prédominance d'hommes dans la cohorte de patients sans diagnostic moléculaire, avec 92 hommes (54%) et 77 femmes.

Il y avait d'autres cas familiaux chez 30 patients, soit dans 18% des familles. L'autre ou les autres membres de la famille atteints étaient :

- Un membre de la fratrie chez 7 patients
- Un parent atteint chez 8 patients
- Un parent atteint + un ou plusieurs membres de la fratrie atteint chez 9 patients
- Un parent + un enfant chez un patient
- Un membre de la fratrie + un parent et un grand parent chez un patient
- Un parent, un oncle et un enfant chez un patient
- Un cousin atteint chez un patient
- Non renseigné chez 2 patients

Vingt-sept patients (16%) ont présenté un retard des acquisitions et/ou une déficience intellectuelle. Parmi eux, 8 ont présenté une déficience intellectuelle sans retard psychomoteur initial, et deux patients ont un décalage dans leurs acquisitions sans déficience intellectuelle. Cent vingt-deux patients n'avaient ni retard des acquisitions, ni déficience intellectuelle.

Soixante-sept patients (40%) ont présenté un déclin cognitif, avec de façon fréquente un syndrome frontal (n=33).

Des troubles psychiatriques étaient également rapportés, avec une fréquence de 12% (n=21).

Sur le plan des symptômes neurologiques, un syndrome extrapyramidal était fréquemment retrouvé, avec une hypertonie extrapyramidale chez 36% des patients (n=61), une akinésie chez 32% d'entre eux (n=54) et un tremblement de repos pour 17% des patients de la cohorte (n=29).

Un syndrome cérébelleux a été retrouvé chez de nombreux patients, 33% (n=56) d'entre eux présentant un syndrome cérébelleux statique et 24% (n=41) un syndrome cérébelleux cinétique. L'ataxie était un symptôme fréquent au sein de la cohorte avec 46% des patients atteints (n=77), suivi de près par la dysarthrie (44%, n=75).

Les mouvements anormaux étaient fréquents, avec :

- Des mouvements dystoniques pour 33% des patients (n=56), prédominants sur les membres (n=51) et la face (n=38), et très rarement au niveau laryngé (n=5)
- Des mouvements choréiques étaient présents chez 25% des patients (n=42) sans précision sur leur localisation

De façon un peu moins fréquente était retrouvée une hypertonie pyramidale, chez 22% (n=37) des patients, et des réflexes vifs isolés ou associés à cette hypertonie chez 31% (n=51) des patients. L'absence de réflexes ostéo-tendineux était rare, présente chez 5,3% des patients (n=9).

Les symptômes retrouvés de façon fréquente sont regroupés dans la Figure 35.

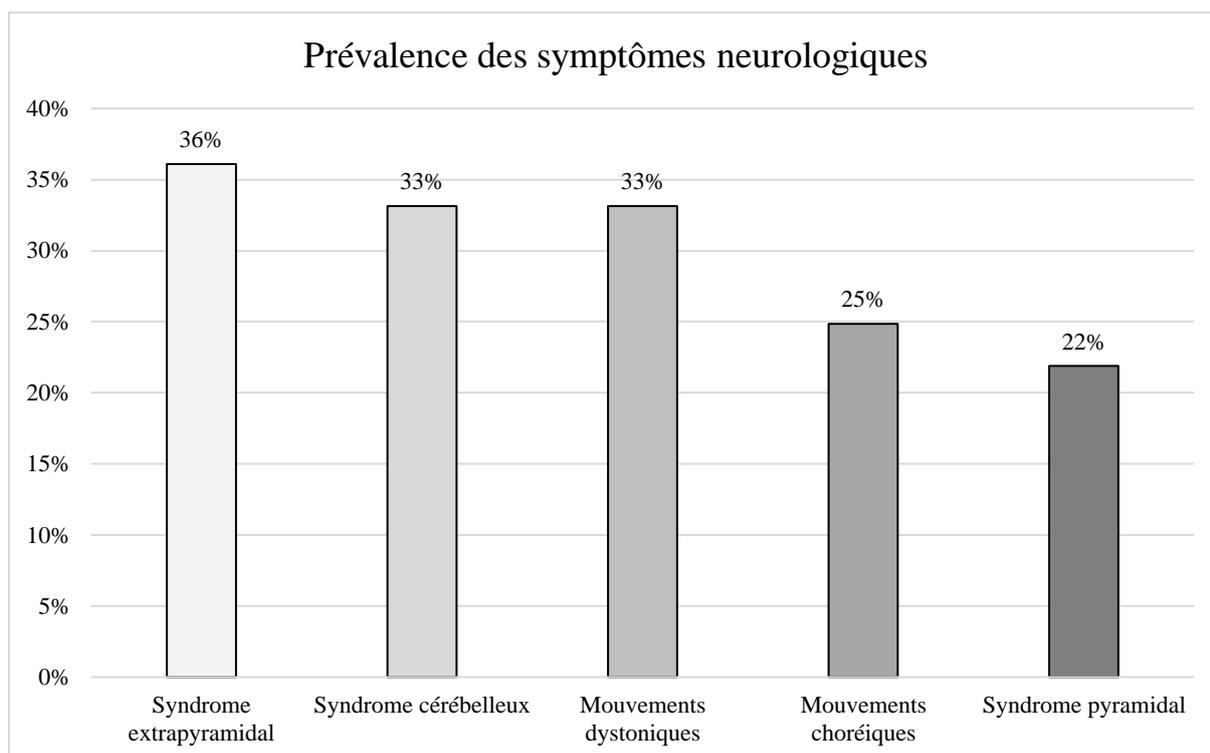


Figure 35 : Symptômes neurologiques retrouvés chez les patients de la cohorte, exprimés en pourcentage par rapport au nombre total de patients dans la cohorte (n=132)

4.2.3 Caractéristiques paracliniques

4.2.3.1 Examens biologiques

Le dosage du fer sérique a été réalisé chez 22% des patients (n=38). Il était normal pour 82% de ces patients (n=31). Il était légèrement diminué pour trois patients et légèrement augmenté chez trois patients.

La ferritine a été dosée chez 48% des patients (n=81). Elle était normale chez 70% de ces patients (n=57), diminuée chez 5 patients et augmentée chez 19 patients, de façon modérée pour la plupart (1 seul patient présentait une ferritinémie très augmentée à 1556 µg/L, il s'agissait d'un patient porteur d'un variant dans le gène *HFE*, gène d'hémochromatose).

Le coefficient de saturation de la transferrine a été dosé chez 24% des patients (n=41). Il était normal chez 68% de ces patients (n=28), légèrement abaissé pour 3 patients, et augmenté chez 10 patients.

La céruléoplasmine a été dosée chez 23% des patients (n=39). Elle était normale chez 37 patients, et très légèrement abaissée chez 2 patients, dont un qui présentait également un cuivre sérique bas (11,2 µmol/L, normes : 14-21).

L'hémoglobinémie était rapportée pour 42% des patients (n=71), elle était abaissée pour 12 patients (6 femmes et 6 hommes), et augmentée chez 5 patients de sexe masculin, de façon modérée.

Le taux de cholestérol était rapporté chez 18% des patients (n=30), il était augmenté chez 7 d'entre eux.

Le dosage des vitamines liposolubles n'était rapporté que chez un patient et était normal.

4.2.3.2 Imagerie cérébrale

Les données de l'IRM étaient disponibles pour 146 patients (86%). L'âge de l'IRM était connu pour 69 patients, il était en moyenne de 47,3 ans (seulement 8 patients ont eu une IRM alors qu'ils étaient mineurs).

La présence de fer dans les noyaux gris centraux était quasi systématique, et présente chez 88% des patients dont on disposait les résultats d'IRM (n=129). Les patients ne présentant pas de fer dans les noyaux gris centraux (n=17) avaient des anomalies de signal IRM dans d'autres zones cérébrales ou cérébelleuses. Les données sont regroupées dans le Tableau 2 et la Figure 36.

Anomalie IRM	Nombre de patients	Pourcentage
Dépôts bipallidaux	129	88%
Dépôts putaminaux	14	9,6%
Dépôts dans les noyaux caudés	10	6,8%
Image en œil de tigre	8	5,5%
Dépôts dans les noyaux sous thalamiques	2	1,4%
Dépôts dans la substance noire	19	13%
Dépôts dans les noyaux rouges	6	4,1%
Dépôts des noyaux dentelés	23	15%
Atrophie corticale	10	6,8%
Atrophie cérébelleuse	25	17,1%
Atrophie du tronc cérébral	3	2,1%
Atrophie du corps calleux	5	3,4%
Leucopathie périventriculaire	40	27%
Poche de Rathke	2	1,4%
Hypersignaux hors des noyaux gris centraux (hippocampe et insula, médullaires)	3	2,1%

Tableau 2 : anomalies IRM retrouvées chez les différents patients

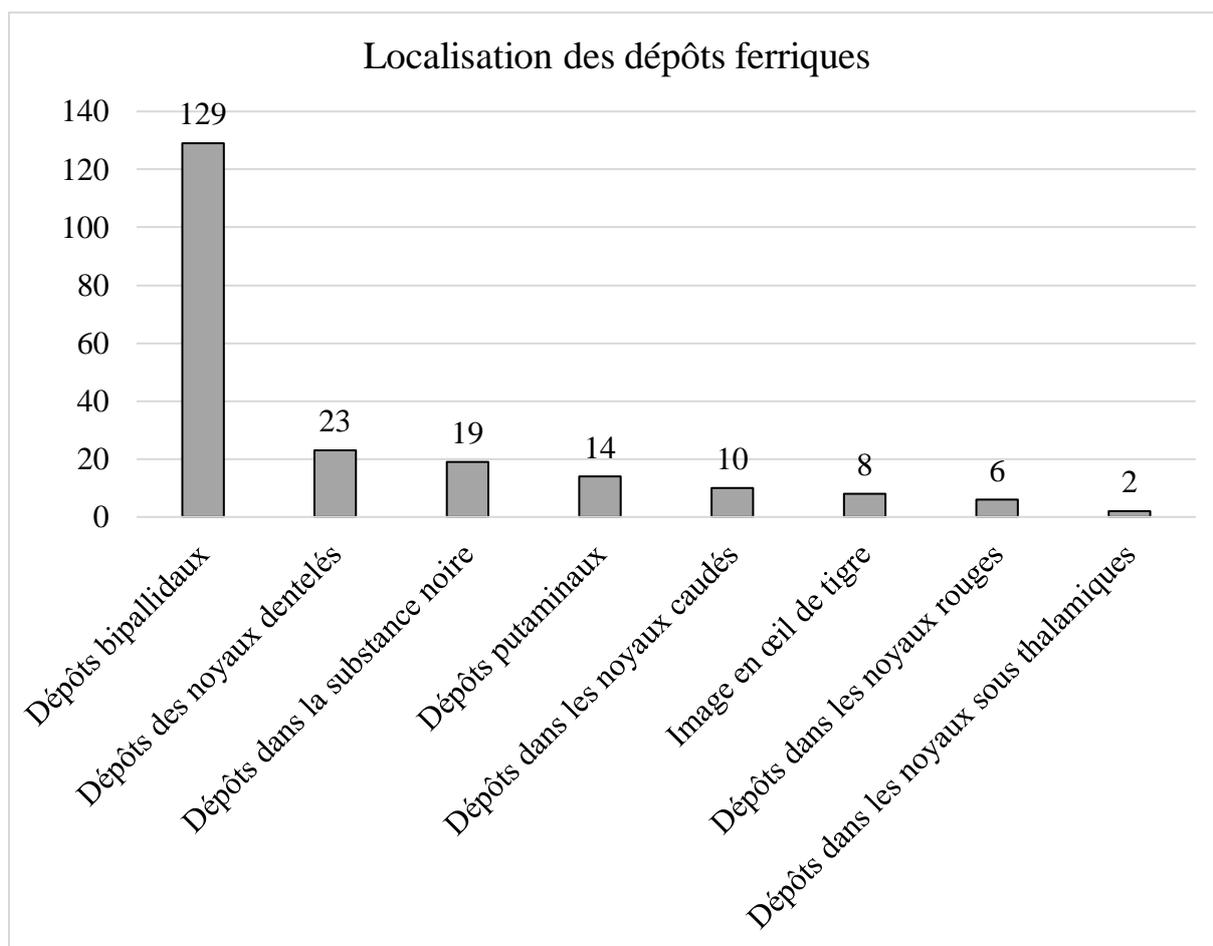


Figure 36 : localisation cérébrale des dépôts de fer

4.2.4 Caractéristiques génétiques

Trente patients avaient eu d'autres analyses génétiques avant la réalisation du panel. Celles-ci sont regroupées dans le Tableau 3 ci-dessous.

Maladie génétique recherchée / gène analysé	Nombre de patients (n)
Maladie de Huntington (<i>HTT</i>)	13
SCA1, 2, 3, 6, 7, 17, DRPLA	11
X fragile / FXTAS (<i>FMRI</i>)	6
Séquençage de l'ADN mitochondrial	4
Ataxie de Friedreich (<i>FXN</i>)	4
Panel des principaux gènes d'hémochromatose	3
CGH-array	3
Panel des principaux gènes de paraparésies spastiques	2
Caryotype standard	2

Panel des principaux gènes de leuco-encéphalopathies vasculaires	2
Huntington-like (<i>JPH3</i>)	2
Panel des principaux gènes de leucodystrophies	1
Analyse de la méthylation du chromosome 15	1
Sclérose latérale amyotrophique liée à <i>C9orf72</i>	1
Analyse du gène <i>MECP2</i> (syndrome de Rett)	1
Panel des principaux gènes de calcifications cérébrales	1
Panel des principaux gènes de dystonies	1
Séquençage du gène <i>ATP7B</i> (maladie de Wilson)	1
Séquençage du gène <i>CHCHD10</i>	1

Tableau 3 : analyses génétiques réalisées avant le panel NBIA

Des diagnostics ont été redressés après réalisation du panel NBIA, et ce pour 8 patients (4,7%) :

- Pour deux patients, le diagnostic de NBIA a été infirmé après la réalisation de scanners cérébraux et de nouvelles IRM, mettant en évidence la présence de calcifications et non de dépôts ferriques dans les noyaux gris centraux
- 2 patients ont eu un diagnostic d'AMS posé lors de l'évolution de leurs symptômes
- 1 patient a eu un diagnostic de connectivite
- 1 patient avait une maladie de Krabbe, diagnostiquée par séquençage d'exome
- 1 patient avait une maladie d'Alexander, diagnostiquée également par séquençage d'exome
- 1 patient a eu un diagnostic de leucodystrophie hypo-myélinisante de type 7 liée au gène *POLR3A*, posé après séquençage d'exome

A l'issue du panel NBIA, des variants de signification indéterminés, ou des variants pathogènes présents à l'état hétérozygote pour des maladies de transmission récessive ont été identifiés chez vingt-trois patients de la cohorte. Ils sont détaillés dans le Tableau 4 (version GRCh37). Le génotype AT du polymorphisme D544E dans *CP* correspond au variant NM_000096.3 : c.1632T>A, p.Asp544Glu, à l'état hétérozygote, et le génotype TT à ce même variant à l'état homozygote. Une analyse de ce variant, présent à l'état hétérozygote chez 6 patients de cette cohorte, et à l'état homozygote chez 7 patients de la cohorte, est réalisée dans la partie discussion.

Identification du patient	Variant n°1	Variant n°2
P3	Gène : <i>CP</i> Génotype TT du polymorphisme D544E	∅
P4	Gène : <i>PANK2</i> NM_153638.3, c.1585A>G, p.Ile529Val, Hétérozygote CGH-array ciblée sur <i>PANK2</i> normale Classé probablement pathogène sur ClinVar à l'état homozygote	∅
P5	Gène : <i>CP</i> Génotype AT du polymorphisme D544E	∅
P12	Gène : <i>CP</i> Génotype TT du polymorphisme D544E	Gène : <i>CP</i> NM_000096.3: c.2378G>A, p.Arg793His Hétérozygote Classé bénin sur ClinVar à 2 reprises
P16	Gène : <i>CP</i> NM_000096.3 : c.1632T>A, p.Asp544Glu Hétérozygote Correspond à un allèle mineur avec une fréquence à 14%	Gène : <i>ATP13A2</i> NM_022089.2 : c.840+42C>T Hétérozygote Variant intronique non décrit, faible effet sur l'épissage
P23	Gène : <i>CP</i> Génotype TT du polymorphisme D544E	∅
P27	Gène : <i>CP</i> Génotype AT du polymorphisme D544E	∅

P32	Gène : <i>CP</i> Génotype TT du polymorphisme D544E	∅
P35	Gène : <i>ATP13A2</i> NM_022089.2 : c.881G>A, p.Arg294Gln Hétérozygote, classé bénin à 5 reprises sur ClinVar	Gène : <i>FA2H</i> : NM_024306.4 : c.229C>T, p.Leu77= Hétérozygote Polymorphisme fréquent, fréquence à 25% dans la population générale
P40	Gène : <i>PLA2G6</i> NM_003560.2 : c.1381C>T, p.Arg461Trp Hétérozygote Classé variant de signification indéterminée sur ClinVar, rapporté à 42 reprises à l'état hétérozygote sur GnomAD, 0 fois à l'état homozygote	∅
P41	Gène : <i>CP</i> NM_000096.3, c.2664G>C, p.(Gly895Ala) Hétérozygote Effet possible sur l'épissage de l'intron 15	∅
P50	Gène : <i>CP</i> Génotype AT du polymorphisme D544E	∅
P55	Gène : <i>CP</i> Génotype AT du polymorphisme D544E	∅
P56	Gène : <i>CP</i> Génotype TT du polymorphisme D544E	Gène : <i>CP</i> NM_000096.3 : c.1430C>T, p.Pro477Leu

		Hétérozygote Classé en classe 2 et classe 3 sur ClinVar, 680 hétérozygotes sur GnomAD et 2 homozygotes
P63	Gène : <i>CP</i> Génotype AT du polymorphisme D544E	∅
P83	Gène : <i>CP</i> Génotype TT du polymorphisme D544E	∅
P96	Gène : <i>CP</i> NM_000096.3, c.2771A>C, p.Asp924Ala Hétérozygote Variant non présent dans les bases de données	∅
P99	Gène : <i>FTL</i> NM_000146.3 : c.24T>A, p.Asn8Lys Non rapporté dans les bases de données de patients, logiciels de prédiction le classifient en polymorphisme, 1 hétérozygote sur gnomAD, distance de Grantham à 94 Variant rendu bénin au patient car hérité d'une mère indemne	∅
P104	Gène : <i>CP</i> Génotype AT du polymorphisme D544E	∅
P107	Gène : <i>CP</i> Génotype TT du polymorphisme D544E	Gène : <i>CP</i> NM_000096.3 : c.1430C>T, p.(Pro477Leu)

		Hétérozygote Classé en classe 2 et classe 3 sur ClinVar, 680 hétérozygotes sur GnomAD et 2 homozygotes
P111	Gène : <i>ATP13A2</i> c.881G>A, p.Arg254Gln, Hétérozygote Variant classé bénin à 5 reprises sur ClinVar	∅
P119	Gène: <i>FA2H</i> NM_024306.4: c.202A>G p.Arg68Gly, Hétérozygote Classé variant de signification indéterminée à 1 reprise sur ClinVar, 13 hétérozygotes et 0 homozygotes sur GnomAD	∅
P130	Gène: <i>PANK2</i> NM_153638.3, c.1561G>A, p.Gly521Arg Classé pathogène sur ClinVar à 4 reprises à l'état homozygote Hétérozygote	∅
P136	Gène: <i>CP</i> NM_000096.3 c.938C>T, p.Thr313Ile Hétérozygote Classé variant de signification indéterminée sur ClinVar, 111 hétérozygotes sur GnomAD (pas d'homozygotes)	∅
P141	Gène : <i>PLA2G6</i>	∅

	NM_003560.4 : c.1117G>A, p.Gly373Arg Hétérozygote Classé pathogène à 2 reprises et probablement pathogène à 1 reprise sur ClinVar (à l'état homozygote)	
--	---	--

Tableau 4 : variants identifiés par le panel 9 gènes, ou le séquençage de FTL / PANK2, non retenus en raison de leur zygocité ou de leurs caractéristiques. Le sigle Ø signifie qu'il n'y a pas de deuxième variant d'intérêt identifié chez le patient

4.3 Patients ayant bénéficié d'exome en trio

4.3.1 Patiente n°1

4.3.1.1 Caractéristiques cliniques et paracliniques

La patiente n°1 est actuellement âgée de 14 ans. Elle a un frère aîné en bonne santé, il n'y a pas d'antécédents familiaux notables, ni de consanguinité.

Les premières inquiétudes remontent à la petite enfance, la patiente ayant présenté un retard modéré des acquisitions psychomotrices, et une crise épileptique partielle d'allure hémisphérique gauche à l'âge de 8 ans, motivant la réalisation d'une IRM cérébrale, dont les coupes sont présentées sur la Figure 37.

Celle-ci met en évidence des cavités ventriculaires élargies, témoignant d'une atrophie cérébrale. Les globi pallidi et la substance noire apparaissent hypointenses de façon bilatérale. On note également un hypersignal insulaire gauche, avec une mauvaise différenciation entre le cortex et la substance blanche, pouvant faire suspecter un aspect de dysplasie, et un hypersignal de l'hippocampe droit, pouvant correspondre à une sclérose mésiale.

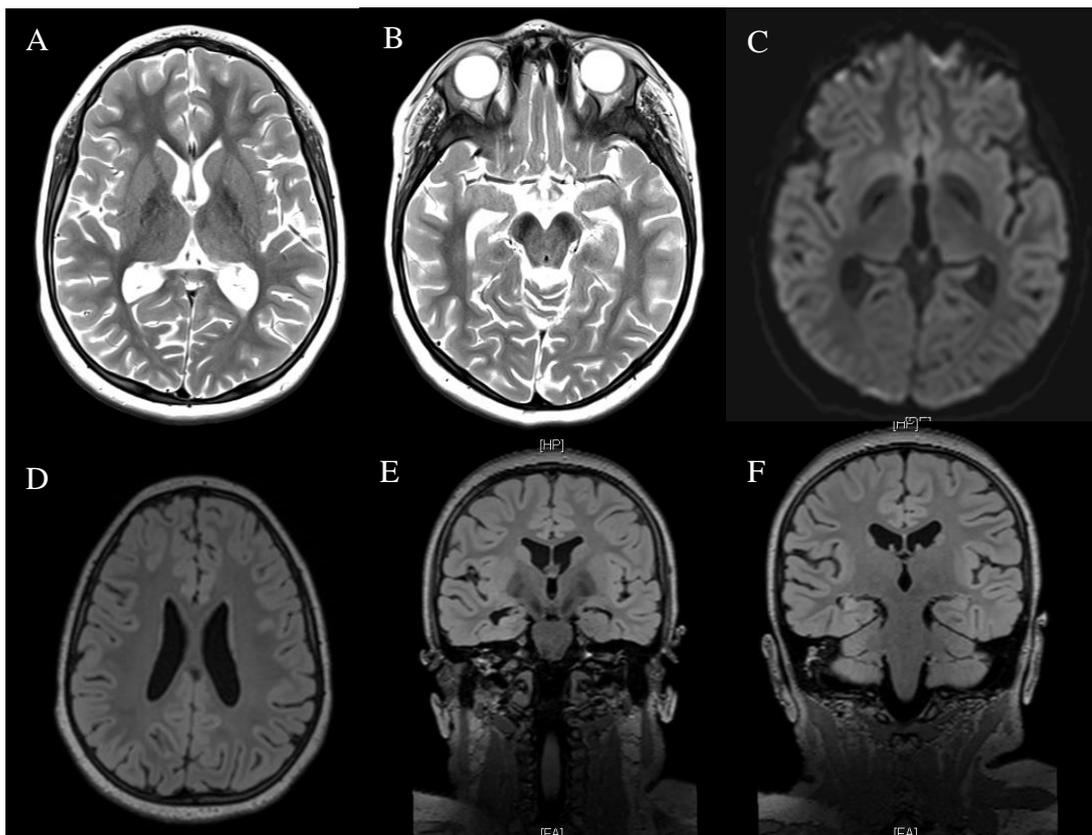


Figure 37 : coupes axiales (A, B, C, D) et coronales (E, F) d'IRM cérébrale de la patiente n°1. La coupe A pondérée T2 montre des dépôts de fer dans les globi pallidi, la coupe B dans la substance noire. La coupe C pondérée en diffusion montre les dépôts pallidaux. La coupe D pondérée FLAIR montre l'élargissement des cavités ventriculaires ainsi que l'hypersignal insulaire gauche. Les coupes E et F pondérées FLAIR montrent l'hypersignal hippocampique droit.

L'examen clinique réalisé par un neuropédiatre expert a permis de mettre en évidence une hypertonie pyramidale, ainsi qu'un syndrome frontal, sans autres anomalies de l'examen neurologique et extra-neurologique.

L'hémoglobulinémie était normale à 13,1g/dL. Le panel NBIA bordelais a été réalisé en mai 2017, et n'a pas mis en évidence de variant pathogène dans les neuf gènes analysés par séquençage à haut débit. Un séquençage Sanger des exons et des jonctions intron exon de l'exon 2 de *PANK2*, de l'exon 4 de *PLA2G6*, de l'exon 1 de *FA2H*, de l'exon 9 de *CP*, et des exons 1, 7, 9, 10, 21 d'*ATP13A2* a également été réalisé (complément systématique du séquençage à haut débit des 9 gènes) et était normal.

4.3.1.2 Données du séquençage d'exome en trio

4.3.1.2.1 Analyse du fichier 5-id_filter.vcf

Le fichier « exome clinique » regroupait 156 variants dans 111 gènes différents. Parmi ces gènes, 8 ont été retenus : *TACC2*, *DTX4*, *PRR12*, *PNPLA6*, *DLGAP4*, *ODC1*, *AARS2* et *AP5Z1*, car ils pouvaient potentiellement être impliqués dans le tableau clinique de la patiente n°1.

L'analyse des variants associés est détaillée dans le Tableau 5.

Gène	Phénotype associé au gène	Variant	Classification du variant
<i>TACC2</i>	Sclérose hippocampique et épilepsie mésiale	g.122195109A>C	Non retenu, car Phred score faible, variant non rapporté et gène non OMIM morbid (c'est-à-dire associé à une ou plusieurs maladies sur la base de données OMIM).
<i>DTX4</i>	Décrit comme associé à la neurologie pédiatrique sur HGMD. Pas de patients décrits avec des variants dans ce gène.	c.124_125insCCGGCG CGGGGG	Non retenu car artefact dans zone riche en GC

<i>PRR12</i>	Associé sur HGMD avec la déficience intellectuelle et des troubles ophtalmologiques	Délétion g.49596680_49596683del	Non retenu car variant artificiel, zone mal couverte avec seulement 6 reads
<i>PNPLA6</i>	Syndrome de Boucher Neuhaüser, SPG de type 39	Variant d'épissage hétérozygote g.7539913A>C	Non retenu car maladies de transmission récessive
<i>DLGAP4</i>	Associé dans un article à une forme d'ataxie complexe, liée à une translocation coupant ce gène	Délétion g.36432518del	Non retenu car Phred score faible, et variant non présent sur les fichiers BAM
<i>ODCI</i>	Syndrome de Bachmann-Bupp, déficience intellectuelle avec dysmorphie de transmission dominante	Variant d'épissage homozygote g.10445267G>A	Non retenu car pathologie dominante
<i>AARS2</i>	Leucoencéphalopathie	2 faux-sens g.44303068C>T et g.44304645C>T	Non retenus car classés bénins sur ClinVar
<i>AP5Z1</i>	SPG48	1 insertion et 1 délétion g.4784204_4784205insG et g.4784213del	Non retenu car il s'agissait d'un artefact, les variants identifiés n'étant pas présents dans les fichiers BAM

Tableau 5 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation

Le fichier « exome recherche » regroupait 173 variants dans 130 gènes différents. Parmi ces gènes, 4 ont été retenus : *PLCB3*, *ACIN1*, *MEX3B* et *CCDC180*. L'analyse des variants associés est détaillée dans le Tableau 6.

Gène	Phénotype associé	Type de variant	Classification du variant
<i>PLCB3</i>	Associé à la déficience intellectuelle, dystrophie cornéenne et dysplasie spondylométaphysaire	Délétion de 10 bases hétérozygote g.64265034_64265044del	Non retenu car maladie récessive sur OMIM
<i>ACINI</i>	Association aux troubles du spectre de l'autisme et aux hétérotopies périventriculaires nodulaires pour 1 patient rapporté	Insertion de 6 nucléotides g.23079574_23079575insGAACGT	Non retenu car fréquence allélique à 38%, et gène non OMIM morbide
<i>MEX3B</i>	Une association aux hétérotopies péri-ventriculaires nodulaires	Insertion de 3 nucléotides g.82045645_82045646insGCC	Non retenu car gène non OMIM morbide, et présent à 482 reprises à l'état hétérozygote sur GnomAD
<i>CCDC180</i>	Association à la maladie de Behçet et aux hétérotopies nodulaires péri-ventriculaires	Insertion de 6 nucléotides g.97330686_97330687insGAGGAG	Non retenu car fréquence allélique à 40%

Tableau 6 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation

4.3.1.2.2 Analyse du fichier 3-id_annotated.vcf

L'analyse du fichier 3-id_annotated.vcf a été réalisée, étant donné qu'aucun variant n'a permis d'expliquer le phénotype de la patiente n°1 à l'issue de l'analyse du fichier 5-id_filter.vcf. Cinq mille quatre cent soixante-quinze variants sont présents dans ce fichier, rendant impossible l'analyse variant par variant.

4.3.1.2.2.1 Filtre sur les principaux gènes de NBIA

Pour la patiente n°1, 6 variants ont été retrouvés, dans 6 des gènes suivants : *AP4MI*, *CP*, *TBCE*, *SQSTM1*, *KMT2B*, *DCAF17*, et sont interprétés dans le Tableau 7.

Gène	Variant	Interprétation du variant
<i>AP4MI</i>	g.100105219_100105220del	Variant non retenu car fréquent en population générale (25 hétérozygotes sur GnomAD). De plus, variant hétérozygote pour une pathologie de transmission récessive.
<i>TBCE</i>	g.235432930del	Variant hétérozygote non retenu, intronique profond, fréquent en population générale, 2470 hétérozygotes et 24 homozygotes dans GnomAD
<i>SQSTM1</i>	g.179825184A>G	Variant hétérozygote faux sens non retenu car classé bénin sur ClinVar, et fréquence trop élevée en population générale (752 hétérozygotes et 8 homozygotes)
<i>KMT2B</i>	g.35732302C>T	Variant faux sens hétérozygote, qui active de façon faible un site cryptique d'épissage. Absent de GnomAD. Données d'évolution qui montrent un acide aminé moyennement conservé. Classé VSI selon la classification de l'ACMG (PM2, PP3). Non retenu car hérité du père qui est asymptomatique. La Figure 38 montre l'alignement des fichiers BAM à cette position.
<i>DCAF17</i>	g.171448667_171448668insT	Variant hétérozygote intronique non retenu, fréquent en population générale (46946 hétérozygotes et 5344 homozygotes), classé bénin sur ClinVar
<i>CP</i>	g.149182034T>C	Variant hétérozygote faux sens non retenu, classé bénin sur ClinVar, présent en population générale (355 hétérozygotes, 5 homozygotes), et hérité du père

Tableau 7 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation

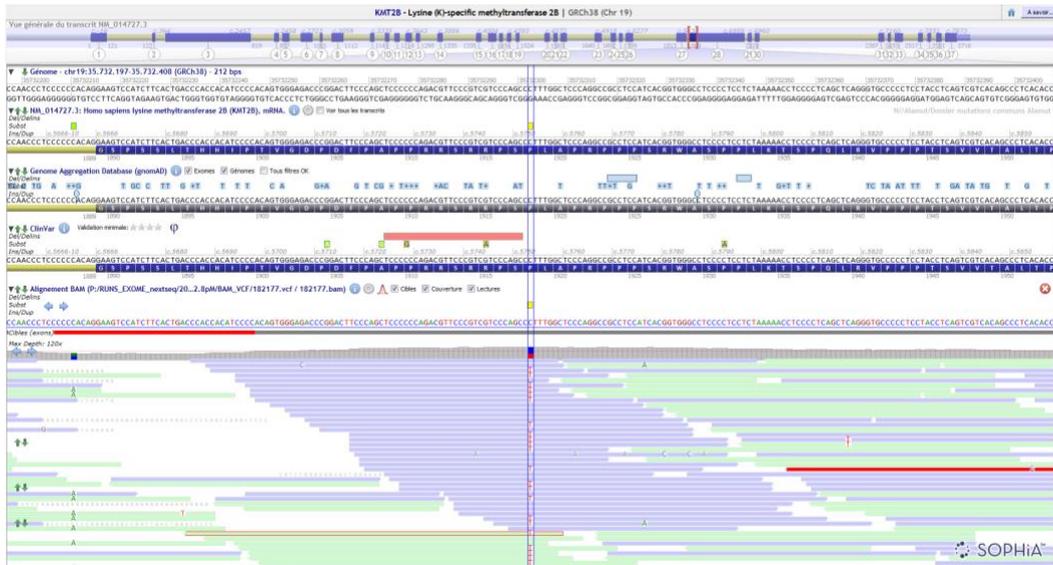


Figure 38 : représentation du variant dans le gène *KMT2B* grâce au logiciel Alamut, les fichiers BAM de la patiente sont alignés dans le bas de l'image

4.3.1.2.2.2 Filtre sur Endeavour

L'analyse par approche de gènes candidats grâce à l'outil Endeavour a permis d'identifier 18 gènes associés aux gènes de NBIA avec une p -value < 0,01. Parmi ces 18 gènes, 11 ont retenu notre attention de par leur rôle et leur spectre phénotypique associé. L'analyse de chaque gène et du variant correspondant est présentée dans le Tableau 8.

Gène	p-value	Phénotype associé au gène	Variant	Interprétation du variant
<i>MVK</i>	0.0051	Dystrophie rétinienne, retard psychomoteur global	g.109591303 C>T	Classé bénin sur ClinVar (variant synonyme)
<i>SLC40A1</i>	0.0054	Surcharge en fer globale, hémochromatose de type 4	g.189572906 G>A et g.189580769 _189580770i nsCCG	Classé bénin sur ClinVar (variant synonyme) et duplication intronique profonde fréquente sur GnomAD
<i>SNCA</i>	0.0057	Maladie de Parkinson	g.89725318_89725319ins AAAA	Répétition dans un track de T
<i>ACO1</i>	0.006	Déficit en acyl-CoA oxydase peroxysomale, avec	g.75945788_75945789ins A	Répétition dans un track de T artéfactuelle

		phénotype neurodéveloppemental		
<i>PNPLA2</i>	0.0067	Trouble du spectre de l'autisme et myopathie	g.825341C>T	Variant en 3'UTR, classé probablement bénin sur ClinVar
<i>FASN</i>	0.007	Trouble du spectre de l'autisme et épilepsie	g.82092679_82092681del	Variant intronique fréquent en population générale
<i>NCOR1</i>	0.0073	Apraxie et trouble du spectre de l'autisme	g.16029260T>C	Variant en 3'UTR, fréquent en population générale
<i>MAPT</i>	0.0079	Démence frontotemporale	g.45983441G>A	Variant intronique profond
<i>PRKCG</i>	0.0085	Ataxie spinocérébelleuse de type 14	g.53904700C>T	Classé bénin sur ClinVar (variant synonyme)
<i>PARK7</i>	0.0088	Maladie de Parkinson	g.7977638A>G	Classé bénin sur ClinVar (variant intronique)
<i>AP2MI</i>	0.0094	Trouble du spectre de l'autisme et encéphalopathie épileptique	g.184182941T>C	Variant intronique fréquent en population générale

Tableau 8 : variants identifiés avec le filtre endeavour et leur interprétation

4.3.1.2.2.3 Filtre sur GTEX

176 gènes ont été sélectionnés grâce à la base de données GTEX. Il s'agit des gènes les plus exprimés dans les régions cérébrales suivantes : le putamen, la substance noire, les noyaux caudés, le nucleus accumbens et le cervelet. La présence de variants dans ces gènes a ensuite été recherchée chez notre patiente, et a permis de retrouver des variants présents dans 17 gènes, dont 4 ont attiré notre attention, ils sont présentés dans le Tableau 9.

Gène	Phénotype associé	Variant	Interprétation du variant
<i>PRRT2</i>	Dyskinésie paroxystique kinésigénique et épilepsie infantile	g.29812235_29812236del et g.29812238T>A	Delins non décrite dans la littérature, en 5'UTR, sans effet prédit sur l'épissage. Delins bien présente sur les fichiers BAM, présentés sur la Figure 39, mais la couverture de cette région est faible. Un séquençage Sanger de cette région a été réalisé, et a infirmé la présence de ce variant (Figure 40).
<i>PKM</i>	Impliqué dans la stabilité protéique	g.72203016C>A et g.72209713G>A	Variant n°1 dans l'intron 10, avec effet modéré prédit sur un site accepteur d'épissage, et variant n°2 synonyme, fréquent à l'état hétérozygote, pas d'homozygotes sur GnomAD Non retenus car gène non impliqué en pathologie humaine à ce jour.
<i>PLP1</i>	Maladie de Pelizaeus-Merzbacher, parapésie spastique de type 2	g.103776603T>C	Variant en 5'UTR, non rapporté, sans effet prédit sur l'épissage. Non retenu, d'autant plus que maladie liée à l'X, touchant les garçons
<i>YWHAE</i>	Troubles neurodéveloppementaux	g.1361318_1361319del	Délétion hétérozygote, rapportée chez 11372 individus sains dans GnomAD à l'état hétérozygote, variant non retenu car trop fréquent en population générale

Tableau 9 : variants identifiés par le filtre GTEX et leur interprétation

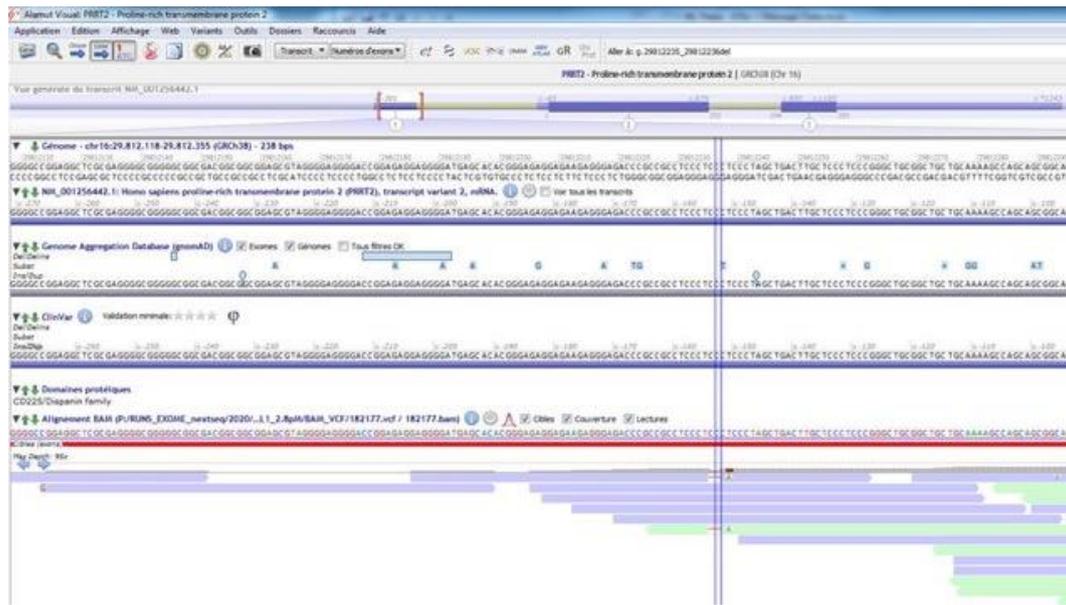


Figure 39 : représentation du variant dans le gène PRRT2 grâce au logiciel alamut, les fichiers BAM de la patiente sont alignés dans le bas de l'image

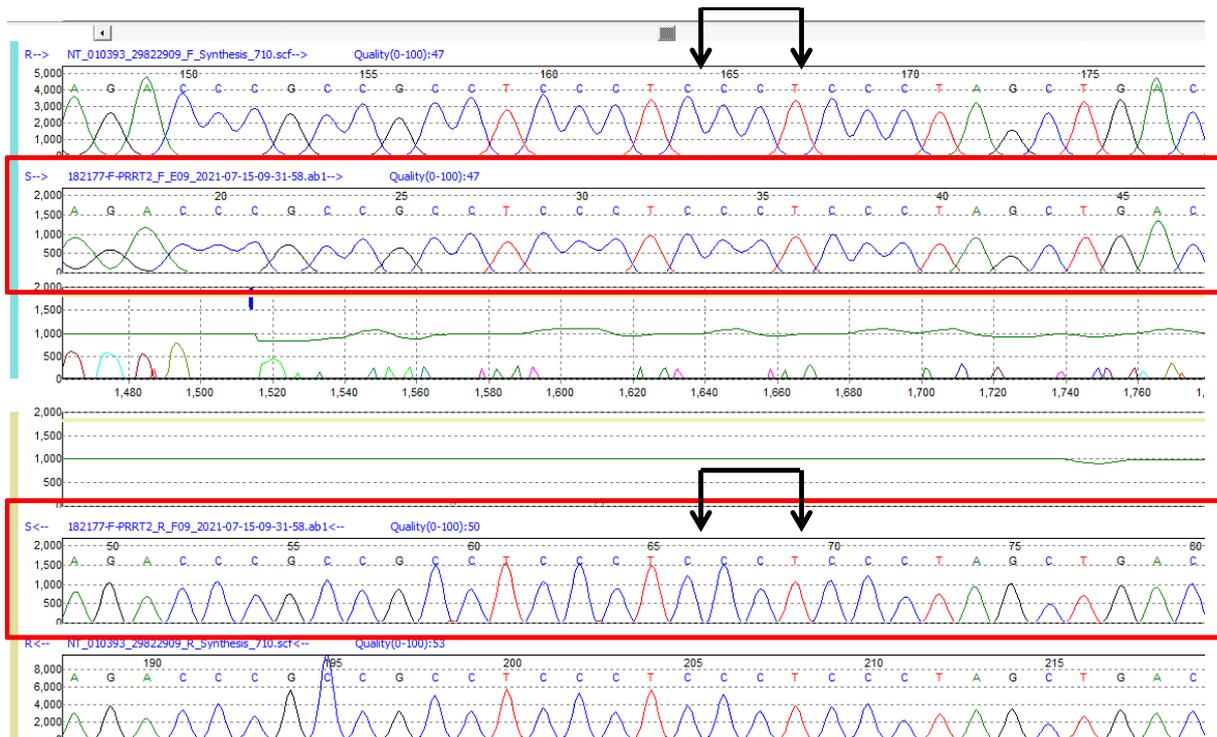


Figure 40 : électrophorégramme de la séquence PRRT2. Les données de la patiente sont encadrées, la double flèche noire indique la position où le variant avait été identifié sur le séquençage d'exome. La séquence de référence n'est pas encadrée, et les données sont identiques à celles de la patiente.

4.3.2 Patient n°2

4.3.2.1 Caractéristiques cliniques et paracliniques

Le patient n°2 est décédé il y a deux ans, à l'âge de 49 ans. Il avait une sœur aînée en bonne santé. Sur le plan des antécédents familiaux, sa mère a un lupus érythémateux disséminé, et a eu un cancer de l'ovaire. Son père est insuffisant rénal chronique, et a été greffé. Ses parents ne sont pas apparentés. On note une schizophrénie ayant débuté à l'adolescence chez une cousine de sa mère, et un trouble du spectre de l'autisme chez un cousin paternel.

Les premières inquiétudes sont apparues dans l'enfance, avec un retard léger des acquisitions psychomotrices (marche à 18 mois, premiers mots à 3 ans). Il a ensuite pu suivre une scolarité classique, et a atteint le niveau 4^{ème} à l'âge de 16 ans (redoublements). A l'âge de 17 ans, il a présenté une bouffée délirante aiguë, au cours d'un camp de vacances. Il a par la suite présenté des épisodes de décompensations thymiques réguliers, nécessitant des hospitalisations en secteur psychiatrique. Il n'a pas repris de scolarité classique. Lors des périodes intercritiques, la récupération était partielle sur le plan cognitif, avec des troubles de la mémoire rétrograde et des difficultés à reconnaître son entourage. Il a eu de nombreux traitements de façon séquentielle :

- Neuroleptiques : rispéridone, loxapine, tiapride, halopéridone, zuclopenthixol, cyamémazine, olanzapine, prométhazine
- Thymorégulateurs : valproate de sodium
- Antidépresseurs : citalopram
- Benzodiazépines : diazépam, clorazépatate, midazolam, oxazépam, clonazépam,

A l'âge de 42 ans, il a présenté des troubles de l'équilibre, des mouvements anormaux de type choréiformes, et une dysarthrie marquée. L'examen clinique mettait en évidence une ataxie statique, une dysarthrie, des mouvements choréiques et une hypertonie extrapyramidale. Une IRM cérébrale a alors été réalisée, et a mis en évidence des globi pallidi hypointenses (Figure 41).

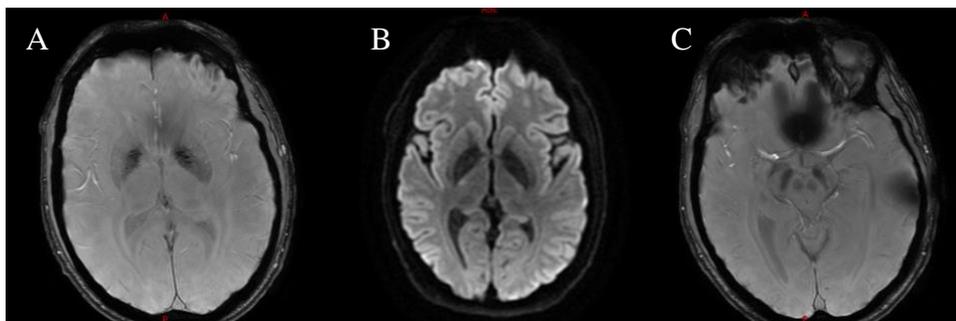


Figure 41 : coupes axiales d'IRM cérébrale, pondérées SWI en (A) et (C), et en diffusion en (B)

Une fenêtre thérapeutique a été réalisée, afin de trancher sur l'imputabilité des neuroleptiques dans ses symptômes neurologiques. Il était alors sous prométhazine, hydroxyzine et citalopram. La fenêtre thérapeutique a démasqué un syndrome catatonique, et a permis une réduction des mouvements choréïques seulement.

Un bilan étiologique large a été réalisé à l'âge de 46 ans. Sur le plan des analyses métaboliques, une chromatographie des acides aminés sanguins, une chromatographie des acides organiques urinaires, le dosage de l'acide phytanique et de l'acide pristanique, ainsi que des acides gras à très longue chaînes étaient normaux. Il n'y avait pas d'anticorps antineuronaux dans le sérum, ni dans le LCR. La ponction lombaire était normale, avec un dosage de la vitamine B9, des lactates et de la sérotonine. Le bilan ferrique retrouvait un fer sérique à 10mmol/L (normes du laboratoire : 6-34), une ferritine à 102µg/L, un coefficient de saturation de la transferrine à 2 (2-3,6), une céruléoplasmine à 0,332g/L (0,2-0,4). L'hémoglobinémie était à 13,9g/dL et la cholestérolémie totale à 7,4mmol/L. Une deuxième IRM a été réalisée, et était stable comparativement à celle réalisée à l'âge de 42 ans.

Le diagnostic d'encéphalite a été évoqué, devant la fluctuation des symptômes et la présence d'un hyposignal frontal au TEP-scan (Figure 42). Des cures de cyclophosphamide ont été débutées, permettant là encore une amélioration modérée des symptômes, sans régression totale. Le diagnostic formel d'encéphalite n'a pas été posé, devant l'absence d'anticorps anti neuronaux retrouvés, et l'hyposignal frontal pouvant également s'inscrire dans ses troubles cognitifs.

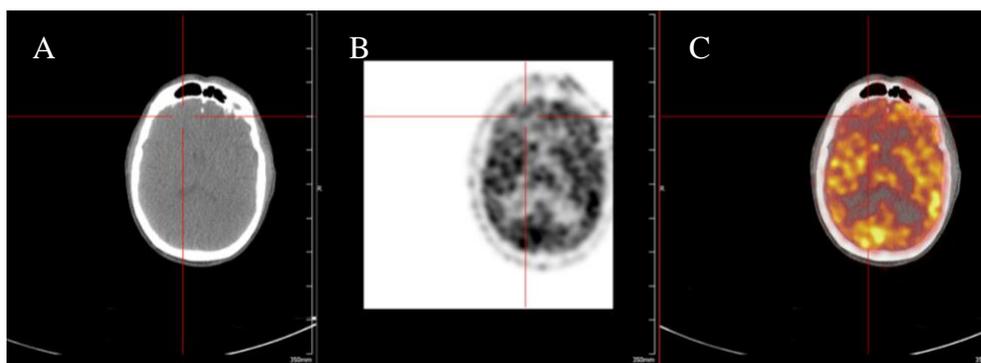


Figure 42 : coupe axiale de scanner (A), de TEP (B), et superposition (C)

Les analyses génétiques suivantes ont été réalisées : CGH-array, séquençage de *MECP2*, recherche d'amplification de CGG dans *FMRI*, recherche d'anomalie de la méthylation du chromosome 15, panel des 9 gènes de NBIA et CGH-array ciblée sur *PANK2*. L'ensemble des résultats étaient négatifs.

4.3.2.2 Données du séquençage d'exome en trio

4.3.2.2.1 Analyse du fichier 5-id_filter.vcf

Le fichier « exome clinique » regroupait 154 variants dans 107 gènes différents. Parmi ces gènes, 5 ont été retenus : *PKMYT1*, *LONPI*, *KCNN3*, *CHD5* et *CACNA1B*, car ils pouvaient potentiellement être impliqués dans le tableau clinique du patient n°2.

L'analyse des variants associés est détaillée dans le Tableau 10.

Gène	Phénotype associé	Variant	Classification du variant
<i>PKMYT1</i>	Parkinson de début précoce	Deux délétions hétérozygotes g.2977020_2977022del g.2977024del	Non retenu car gène non OMIM morbide, et variants décrits dans la littérature sont hétérozygotes et <i>de novo</i> . De plus, variants artéfactuels non présents sur les fichiers BAM.
<i>LONPI</i>	Syndrome de CODAS (cerebral, ocular, dental, auricular, and skeletal anomalies syndrome)	Insertion de 8 nucléotides g.5720051_5720052insGGGGGGGG	Non retenu car artefact de séquençage et maladie de transmission autosomique récessive
<i>KCNN3</i>	Syndrome de Zimmermann Laband	Insertion de 12 nucléotides g.154869723_154869724insGCTGCTGCTGCT	Non retenu, le phénotype décrit dans la littérature est plus sévère avec une atteinte neuro-développementale précoce
<i>CHD5</i>	Associé sur HGMD aux hétéropies péri-ventriculaires nodulaires	Délétion g.6112143del	Délétion non retenue car absente des fichiers BAM

CACNA1B	Déficience intellectuelle et troubles du mouvements, transmission autosomique récessive	Insertion g.138023625_ 138023626insGC	Non retenu car maladie récessive et variant hétérozygote
----------------	---	---	--

Tableau 10 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation

Le fichier « exome recherche » regroupait 158 variants dans 127 gènes différents. Parmi ces gènes, 2 ont été retenus. L'analyse des variants est détaillée dans le Tableau 11.

Gène	Phénotype associé	VARIANT	Classification du variant
HMOX2	Décrit comme associé à la maladie de Parkinson et à des niveaux bas d'hémoglobine	Insertion g.4506940_ 4506941insCCCC	Variant initialement considéré intéressant, car associé à une accumulation de fer dans les poumons de souris, mais non retenu car absent des fichiers BAM.
SKOR2	Associé à l'ataxie cérébelleuse	Délétion de 2 nucléotides g.47247079_47247081del	Non retenu car décrit de transmission récessive dans la littérature, et avec un phénotype d'ataxie congénitale

Tableau 11 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation

4.3.2.2.2 Analyse du fichier 3-id_annotated.vcf

4.3.2.2.2.1 Filtre sur les principaux gènes de NBIA

La recherche d'un ou plusieurs variants dans les 22 gènes responsables ou susceptibles d'être responsables de NBIA a été réalisée, et a mis en évidence 6 variants (Tableau 12).

Gène	Variant	Interprétation du variant
<i>ATP13A2</i>	g.16986078T>G	Variant hétérozygote en 3' UTR, jamais rapporté. Non retenu car hétérozygote pour une pathologie récessive.
<i>C19orf12</i>	g.29702275G>C	Variant homozygote en 3'UTR, fréquent en population générale (69917 hétérozygotes et 17706 homozygotes), classé bénin sur ClinVar, non retenu
<i>COASY</i>	g.42564837T>G	Variant hétérozygote faux sens synonyme. Non retenu car synonyme, et maladie de transmission récessive
<i>CP</i>	g.149183609del	Variant hétérozygote intronique, présent à l'état hétérozygote chez 4288 individus en population générale, non retenu car pathologie récessive et trop fréquent.
<i>SQSTM1</i>	g.179833601G>A	Variant hétérozygote synonyme, bénin sur ClinVar, trop fréquent en population générale (1259 hétérozygotes et 6 homozygotes). Non retenu.
<i>WDR45</i>	g.49075972T>G	Variant hémizygote intronique, sans effet sur l'épissage selon les sites de prédiction, classé VSI sur ClinVar. Non retenu, d'autant plus que le patient est un homme âgé.

Tableau 12 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation

4.3.2.2.2.2 Filtre sur Endeavour

L'analyse par approche de gènes candidats grâce à l'outil Endeavour a permis d'identifier 9 gènes associés aux gènes de NBIA avec une p-value < 0,01. Parmi ces 9 gènes, 5 ont retenu notre attention de par leur rôle et leur spectre phénotypique associé. L'analyse de chaque gène et du variant correspondant est présentée dans le Tableau 13.

Gène	p-value	Phénotype associé au gène	Variant	Interprétation du variant
<i>HADHB</i>	0.0069	Maladie mitochondriale, association à la maladie de Charcot-Marie-Tooth	g.26254259_26254261dup	Non retenu, duplication classée bénigne sur ClinVar et fréquente en population générale

SNCA	0.0078	Maladie de Parkinson	g.89725318_89725319ins AAA	Non retenu car duplication en 3'UTR fréquente en population générale
ACOX1	0.0082	Déficit en acyl-CoA oxydase peroxysomale, avec phénotype neurodéveloppemental	g.75942876C>T	Variant en 3'UTR classé bénin sur ClinVar
PNPLA2	0.009	Trouble du spectre de l'autisme et myopathie	g.823729C>T	Variant classé bénin sur ClinVar
FASN	0.0098	Trouble du spectre de l'autisme et épilepsie	g.82081634G>T	Variant synonyme avec 1 hétérozygote sur GnomAD, classé probablement bénin sur ClinVar et hérité de la mère. Non retenu.

Tableau 13 : variants identifiés par le filtre endeavour et leur interprétation

4.3.2.2.3 Filtre sur GTEX

La présence de variants dans les 176 gènes les plus exprimés dans les zones cérébrales d'intérêt a été recherchée chez notre patient, et a permis de retrouver des variants présents dans 11 gènes, dont 4 ont suscité notre attention, ils sont présentés dans le Tableau 14 ci-dessous.

Gène	Phénotype associé	Variant	Interprétation du variant
TUBA1A	Associé à des tubulinopathies et des cas de lissencéphalie	g.49186485del et g.49186506G>A	Variants introniques, les deux sont fréquemment rapportés à l'état hétérozygote dans la population générale. Non retenus car maladie dominante.
ATNI	Ataxie (DRPLA) et épilepsie myoclonique progressive	g.6936178C>T et g.6936728_6936729insCAGCAGCAGCAGCAG	Variant n°1 faux sens rapporté chez 11 témoins à l'état hétérozygote, prédictions contradictoires par les logiciels <i>in silico</i> (prédit bénin

			sur Varsome). Présent sur les fichiers BAM. Non retenu car ne correspond pas aux variants pathogènes retrouvés dans <i>ATNI</i> . L'insertion (variant n°2) est artéfactuelle.
<i>LDHB</i>	Déficit en lactate déshydrogénase	g.21641935_21641936insT	Variant intronique fréquent en population générale
<i>APP</i>	Maladie d'Alzheimer	g.25880931_25880932 insCGGGGGGGG	Variant artéfactuel

Tableau 14 : variants identifiés par le filtre GTEX et leur interprétation

4.3.3 Patient n°3

4.3.3.1 Caractéristiques cliniques et paracliniques

Le patient n°3 a actuellement 59 ans. Il est fils unique. Ses parents ne sont pas apparentés. Sa mère est diabétique et a eu un cancer colique, son père est dialysé pour une insuffisance rénale chronique depuis 2014.

Il a comme antécédents une hépatomégalie d'origine indéterminée, associée à une hyperferritinémie à 2 fois la normale, stable.

Les premiers symptômes d'ordre neurologique remontent à l'âge de 50 ans, avec des sensations de raideur des membres inférieurs prédominant le matin, majorées par l'immobilité et régressant partiellement avec l'activité physique. L'examen clinique met en évidence une hypertonie extrapyramidale associée à une dystonie des membres inférieurs. Le reste de l'examen clinique était normal, il n'y a de déclin cognitif ou de troubles psychiatriques.

L'IRM cérébrale réalisée dans ce contexte retrouve des dépôts des globi pallidi et de la substance noire visualisables sur les coupes ci-dessous (Figure 43).

Le bilan ferrique retrouve un fer sérique à $18,1 \mu\text{mol/L}$ (normes du laboratoire : $5,8-34,5$), une ferritine à $547 \mu\text{g/L}$ ($22-322$), un CST normal à $0,27$ ($0,15-0,35$), une céruléoplasmine abaissée à $0,20 \text{ g/L}$ ($0,22-0,48$). L'hémoglobinémie était à $15,8 \text{ g/dL}$, la cholestérolémie est à $6,09 \text{ mmol/L}$.

Le panel de 9 gènes de NBIA a mis en évidence le génotype TT du polymorphisme D544E rs707153 de la céruléoplasmine.

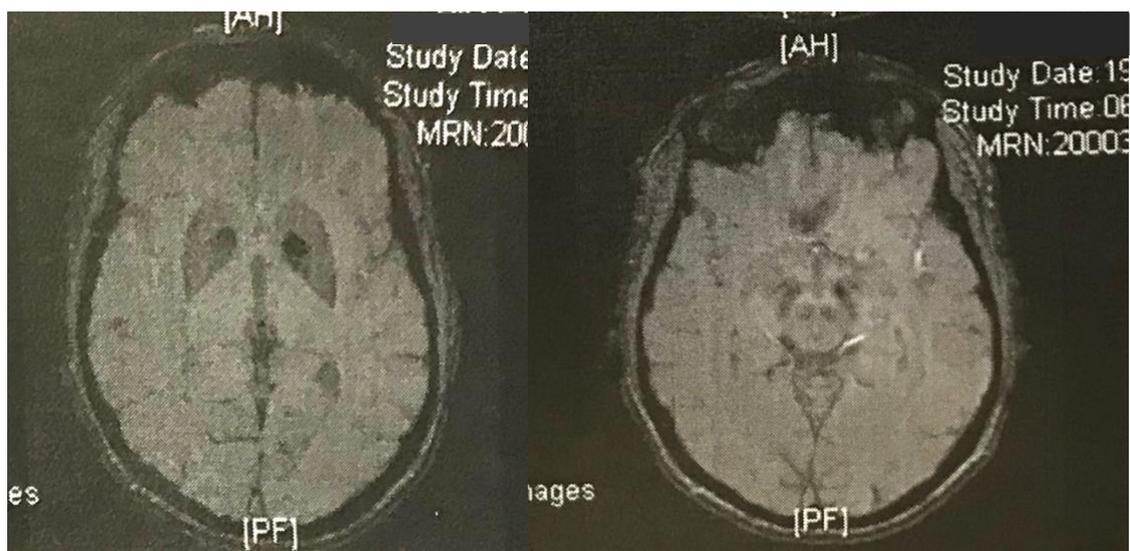


Figure 43 : Coupes axiales de l'IRM du patient n°3, mettant en évidence des hypointensités des globi pallidi sur la coupe de gauche (séquence SWI) et de la substance noire sur la coupe de droite (séquence injectée).

4.3.3.2 Données du séquençage d'exome en trio

4.3.3.2.1 Analyse du fichier 5-id_filter.vcf

Le fichier « exome clinique » regroupait 136 variants dans 95 gènes différents. Parmi ces gènes, 4 ont été retenus : *SIRT1*, *SMPDI*, *MECR* et *PCDH12*, car ils pouvaient potentiellement être impliqués dans le tableau clinique du patient n°3. L'analyse des variants associés est détaillée dans le Tableau 15.

Gène	Phénotype associé	Variant	Classification du variant
<i>SIRT1</i>	Décrit sur HGMD comme associé à : 6 infarctus du myocarde, 4 malformations ventriculaires, 3 maladies de Parkinson, 2 hernies inguinales	g.67884765_67884770del et g.67884780_67884785del	Non retenu car gène non OMIM morbide, et zone complexe mal couverte chez l'ensemble des patients séquencés en exome.
<i>SMPDI</i>	Maladie de Niemann Pick de type B, 5 associations à la maladie de Parkinson sur HGMD	g.6390736_6390741del	Non retenu car maladie récessive et délétion fréquente en population générale
<i>MECR</i>	Atrophie optique, dystonie débutant dans l'enfance et anomalie de signal dans les noyaux gris centraux, 8 variants rapportés. Transmission autosomique récessive. Décrit comme un nouveau sous-type de NBIA par Ody Sibon, le MePAN	g.29230858del et g.29230864_29230865insT	Non retenus car variants non présents sur les fichiers BAM, correspondent en réalité à des variants soft-clipped
<i>PCDH12</i>	Calcifications cérébrales	g.141945390_141945391insCTGCTGCTG	Non retenu car variant classé bénin sur ClinVar

Tableau 15 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation

Le fichier « exome recherche » regroupait 143 variants dans 116 gènes différents. Parmi ces gènes, 2 ont été retenus : *KCNN2* et *ACINI*. L'analyse des variants associés est détaillée dans le Tableau 16.

Gène	Phénotype associé	Variant	Classification du variant
<i>ACINI</i>	Association aux troubles du spectre de l'autisme et aux hétérotopies périventriculaires nodulaires pour 1 patient rapporté	g.23079574_23079575insGAAC GT	Artefact fréquent, non présent sur les fichiers BAM donc non retenu.
<i>KCNN2</i>	Associé aux myoclonies et dystonie	g.114362946_114362948dup	Non retenu car gène non OMIM morbide, phénotype souris : « souris frissonnante », mais pour variants homozygotes seulement, et variant fréquent en population générale

Tableau 16 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation

4.3.3.2.2 Analyse du fichier 3-id_annotated.vcf

4.3.3.2.2.1 Filtre sur les principaux gènes de NBIA

La recherche d'un ou plusieurs variants dans les 22 gènes responsables ou susceptibles d'être responsables de NBIA a été réalisée, et a mis en évidence 5 variants (Tableau 17).

Gène	Variant	Interprétation du variant
<i>DCAF17</i>	g.171448665_171448666insT et g.171481302T>A	Variant hétérozygote intronique ayant un effet sur l'épissage, mais non retenu car présent en population générale à l'état hétérozygote chez 37048 individus. Variant hétérozygote en 3'UTR, non retenu car classé bénin sur ClinVar, et présent chez 3216 individus à l'état hétérozygote en population générale.

KMT2B	g.35733302T>C	Variant hétérozygote, présent chez 1 individu à l'état hétérozygote en population générale et aucun homozygote, faux sens moyennement conservé, hérité du père. Logiciels de prédiction discordants. Variant non retenu car non présent sur les fichiers BAM (Figure 44, probablement appelé car situé dans une région mal couverte).
MANEAL	g.37794252A>T	Variant faux-sens hétérozygote, 158 hétérozygotes en population générale, classé bénin par les logiciels de prédiction. Pathologie supposée de transmission récessive, donc variant non retenu.
TBCE	g.235401575A>T	Variant faux-sens hétérozygote, site cryptique accepteur d'épissage activé, acide aminé très conservé, hérité de la mère. Non retenu car maladie de transmission récessive.

Tableau 17 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation



Figure 44 : représentation du variant identifié dans le gène KMT2B, non identifié sur les fichiers BAM

4.3.3.2.2 Filtre sur endeavour

L'analyse par approche de gènes candidats grâce à l'outil Endeavour a permis d'identifier 9 gènes associés aux gènes de NBIA avec une p-value < 0,01. Parmi ces 9 gènes, 2 ont retenu notre attention, leur analyse est présentée dans le Tableau 18.

Gène	p-value	Phénotype associé	Variant	Interprétation du variant
HADHB	0.0067	Maladie mitochondriale, association à la maladie de Charcot-Marie-Tooth	g.26279979T>G et g.26279980C>A	Variants non retenus car absents des fichiers BAM
SLC40A1	0.0076	Surcharge en fer globale, hémochromatose de type 4	g.189580769_189580770insCCG	Variant non retenu car fréquent en population générale (fréquence allélique à 41%)

Tableau 18 : variants identifiés avec le filtre endeavour et leur interprétation

4.3.3.2.2.3 Filtre sur GTEX

La présence de variants dans les 176 gènes les plus exprimés dans les zones cérébrales d'intérêt a été recherchée chez notre patient, et a permis de retrouver des variants présents dans 17 gènes, dont 2 ont retenu notre attention, ils sont présentés dans le Tableau 19 ci-dessous.

Gène	Phénotype associé	Variant	Interprétation du variant
TUBB4A	Dystonie, hypomyélinisation, atrophie des noyaux gris centraux	g.6496425C>T	Variant intronique, non retenu car fréquent en population générale, et présent sur seulement 3 reads (sur un nombre total de 35 reads)
KIF5A	Paraparésie spastique	g.57583220C>T	Variant intronique, non retenu car fréquent en population générale et classé bénin à 2 reprises sur ClinVar

Tableau 19 : variants identifiés par le filtre GTEX et leur interprétation

4.3.4 Patient n°4

4.3.4.1 *Caractéristiques cliniques et paracliniques*

Le patient n°4 a actuellement 20 ans. Il est fils unique. Sur le plan des antécédents familiaux, sa mère a une stéatose hépatique, et son père présente des tics moteurs, une polypose colique, une hernie hiatale, une coxarthrose et a eu une tumeur testiculaire bénigne. On note également une démence non caractérisée du grand-père paternel, et une déficience intellectuelle chez un des grands oncles. Les parents du patients n°4 ne sont pas apparentés.

Il n'a pas présenté de retard des acquisitions et a pu suivre une scolarité classique jusqu'à la classe de 1^{ère}. Il rapporte des épisodes réguliers de contractures musculaires douloureuses des membres inférieurs depuis l'enfance, ainsi que des troubles des praxies. Pour exemple, il n'a jamais su réaliser ses lacets de façon autonome. Il a comme autres antécédents médicaux une rectocolite hémorragique depuis l'adolescence, et un daltonisme.

Les premières inquiétudes sont apparues à 13 ans, avec l'apparition de troubles de la marche, de chutes à répétition, de dystonies paroxystiques des membres inférieurs aggravées en contexte anxieux. Une IRM cérébrale a été réalisée et a mis en évidence des hyposignaux bilatéraux des globi pallidi. Un scanner cérébral a également été réalisé, retrouvant des calcifications bipallidales, plus petites que les hyposignaux retrouvés en IRM.

L'état clinique du patient n°4 s'est aggravé au fil des mois, et à l'âge de 18 ans, il présente un syndrome extrapyramidal, une dystonie des membres inférieurs, supérieurs et laryngée, une hypertonie pyramidale avec des réflexes vifs. Il se déplace principalement en fauteuil. Il a également des troubles du sommeil avec des spasmes en flexion notés par ses parents. Sur le plan cognitif, son efficacité cognitive est normale, mais il présente des difficultés attentionnelles et des troubles exécutifs modérés. Un électromyogramme a été réalisé et ne retrouve pas d'activité de repos, ni d'autres éléments pathologiques. Un électroencéphalogramme de veille et de sommeil a également été fait et était sans particularités.

Un bilan ophtalmologique a été réalisé, le fond d'œil était normal, les potentiels évoqués visuels et l'électrorétinogramme ont montré une neuropathie optique bilatérale de type axonale, avec une diminution de l'électrogenèse rétinienne globale modérée. L'IRM a été réalisée à nouveau en février 2020, et était superposable à celle réalisée quasiment 5 ans plus tôt, pour les dépôts retrouvés dans les globi pallidi (Figure 45).

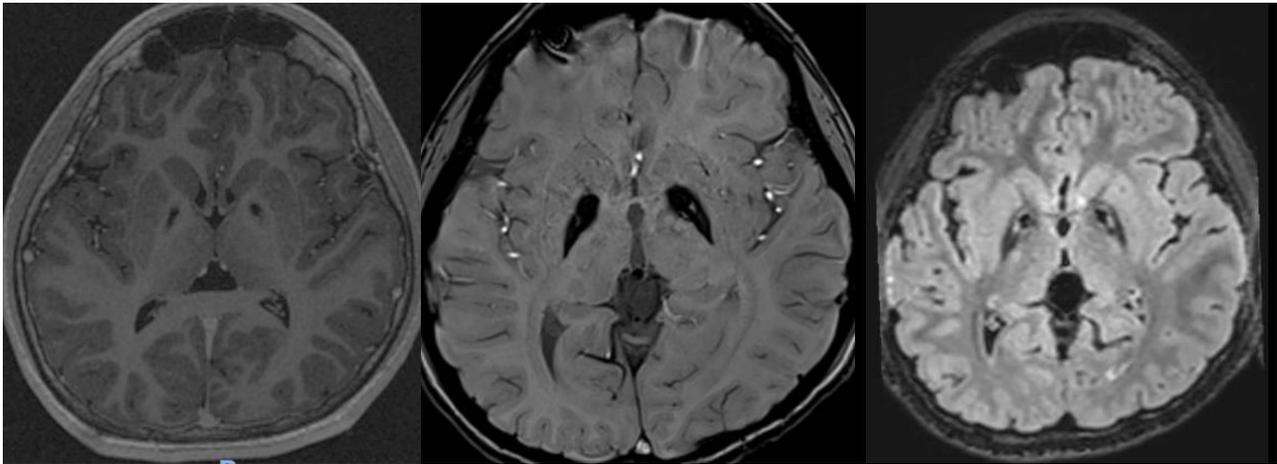


Figure 45 : coupes axiales de l'IRM du patient n°4 à l'âge de 18 ans, de gauche à droite : séquence T1, SWI et 3D FLAIR

Sur le plan des explorations biologiques, le bilan phosphocalcique était normal, la ferritine à 44µg/L, le CST à 12%, l'hémoglobine à 14g/dL et le dosage du cuivre et de la céruléoplasmine normaux. Le panel de calcifications cérébrales de Rouen a été réalisé et n'a pas mis en évidence de variant pathogène dans les gènes suivants : *SLC20A2*, *PDGFB*, *PDGFRB*, *XPR1* et *MYORG*, ni d'anomalie de dosage génique de *SLC20A2* et *PDGFB*. Le panel des 9 gènes de NBIA a mis en évidence un variant faux-sens présent à l'état hétérozygote dans *PANK2*, NM_153638.2 : c.1585A>G, p.Ile529Val, classé comme probablement pathogène. Une CGH-array ciblée sur *PANK2* n'a pas mis en évidence d'anomalie de dosage génique, en particulier pas de délétion pouvant affirmer l'imputabilité de ce variant à l'état hétérozygote.

4.3.4.2 Données du séquençage d'exome en trio

4.3.4.2.1 Analyse du fichier 5-id_filter.vcf

Le fichier « exome clinique » regroupait 165 variants dans 117 gènes différents. Parmi ces gènes, 8 ont été retenus : *SETD1B*, *EP400*, *DDHD1*, *GALC*, *TRAP1*, *CACNA1G*, *LONP1*, et *MAD1L1*, car ils pouvaient potentiellement être impliqués dans le tableau clinique du patient n°4. L'analyse des variants associés est détaillée dans le Tableau 20.

Gène	Phénotype associé	Variants	Classification du variant
<i>SETD1B</i>	Déficiência intellectuelle sévère, avec épilepsie, débutant dans l'enfance, variants toujours <i>de novo</i>	g.121823076_121823091del et g.121823077_121823078del	Phénotype de la maladie trop sévère par rapport au patient, variants non retenus
<i>EP400</i>	Association aux troubles du spectre de l'autisme et à l'épilepsie	g.132053386_132053387del, g.132053401_132053402del, g.132053405_132053408del	Non retenus car gène non OMIM morbid, variants fréquents en population générale à l'état hétérozygote, et variants artéfactuels.
<i>DDHD1</i>	Paraparésie spastique de type 28	g.53062957A>T	Variants non-sens hétérozygote non retenu car maladie de transmission autosomique récessive
<i>GALC</i>	Maladie de Krabbe	g.87993097G>C	Variants faux sens non retenu car maladie de transmission récessive et variant hétérozygote
<i>TRAP1</i>	CAKUT, 1 association à la maladie de Parkinson tardive	g.3664266T>G, g.3664268A>C, g.3664272A>C	Variants rapprochés dans l'intron 13 avec faible effet sur l'épissage, non retenus car gène non OMIM morbid, et que son implication comme facteur de risque dans la maladie de Parkinson est débattue

CACNAIG	Ataxie spinocérébelleuse de type 42	g.50609875C>G	Variant présent dans l'intron 25, présent sur 23% des reads. Non retenu car ne correspond pas au phénotype, et effet faible de ce variant sur l'épissage
LONPI	Syndrome de CODAS (cerebral, ocular, dental, auricular, and skeletal anomalies syndrome)	g.5713132A>C	Non retenu car maladie de transmission récessive
MAD1L1	Associé aux troubles du spectre de l'autisme et à la maladie de Parkinson précoce	g.2219326G>C	Effet modéré sur l'épissage de l'intron 6, mais variant non retenu car absent des fichiers BAM.

Tableau 20 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation

Le fichier « exome recherche » regroupait 155 variants dans 117 gènes différents. Parmi ces gènes, 1 a été retenu, *SKOR2*. L'analyse des variants présents dans ce gène est détaillée dans le Tableau 21.

Gène	Phénotype associé	Variant	Classification du variant
SKOR2	Associé à l'ataxie cérébelleuse	g.47246672_47246673insCCC et g.47248067_47248068insG	Non retenus car phénotype d'ataxie congénitale dans la littérature, et variants absent des fichiers BAM.

Tableau 21 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation

4.3.4.2.2 Analyse du fichier 3-id_annotated.vcf

4.3.4.2.2.1 Filtre sur les principaux gènes de NBIA

La recherche d'un ou plusieurs variants dans les 22 gènes responsables ou susceptibles d'être responsables de NBIA a été réalisée, et a mis en évidence 6 variants (Tableau 22).

Gène	Variant	Interprétation du variant
<i>C19orf12</i>	g.29702275G>C	Variant hétérozygote en 3'UTR, classé bénin sur ClinVar, présent en population générale chez 69917 individus sains à l'état hétérozygote
<i>CP</i>	g.149183608_149183609insA et g.149212715G>C	Variant 1 : à l'état hétérozygote intronique avec effet faible sur l'épissage, non rapporté dans la littérature. Duplication située dans un track de T, probable artefact, présente sur peu de brins sur les fichiers BAM (Figure 46) Variant 2 : à l'état hétérozygote, intronique avec effet faible sur l'épissage, classé sur ClinVar en variant de signification indéterminée, rapporté chez 2760 individus à l'état hétérozygote et 3 individus à l'état homozygote. Possible biais de brin car présent uniquement sur les brins forward sur les fichiers BAM (Figure 47). Variants non retenus du fait de ces arguments.
<i>DCAF17</i>	g.171481302T>A	Variant hétérozygote en 3' UTR, rapporté chez 3216 individus sains à l'état hétérozygote, rapporté bénin sur ClinVar, non retenu
<i>KMT2B</i>	g.35727139C>T	Variant hétérozygote intronique, non retenu car présent chez 448 individus sains à l'état hétérozygote
<i>PANK2</i>	g.3918719A>G	Variant retrouvé sur le panel NBIA, à l'état hétérozygote (Figure 48)

Tableau 22 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation

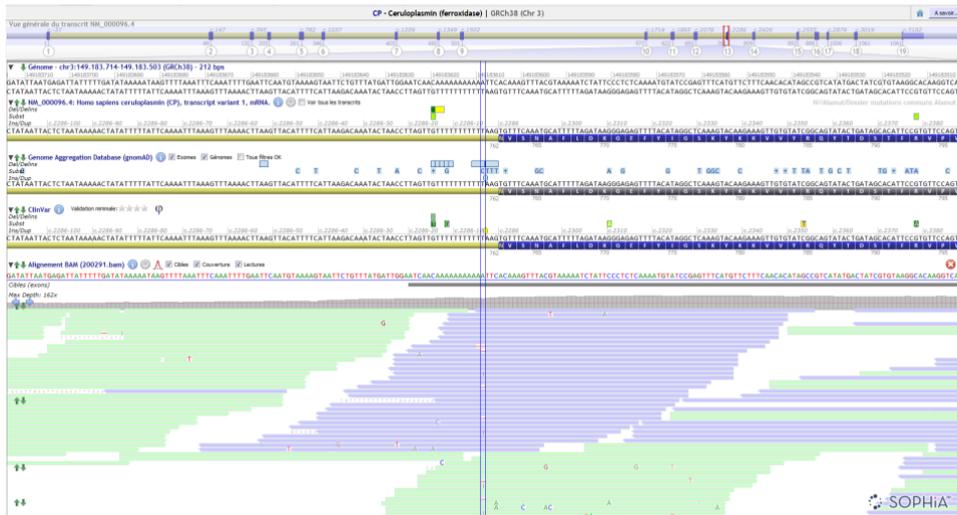


Figure 46 : représentation du variant n°1 identifié dans le gène CP par le séquençage d'exome, non retrouvé sur les fichiers BAM (visualisation avec le logiciel Alamut)



Figure 47 : représentation du variant n°2 identifié dans le gène CP par le séquençage d'exome, non retrouvé sur les fichiers BAM (visualisation avec le logiciel Alamut)

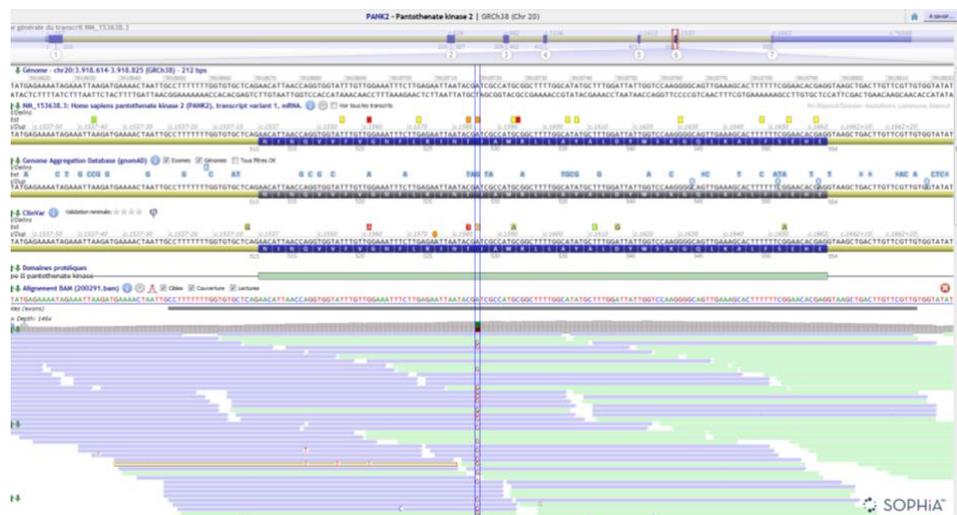


Figure 48 : représentation du variant identifié dans le gène PANK2 par le séquençage d'exome, non retrouvé sur les fichiers BAM (visualisation avec le logiciel Alamut)

4.3.4.2.2.2 Filtre sur Endeavour

L'analyse par approche de gènes candidats grâce à l'outil Endeavour a permis d'identifier 8 gènes associés aux gènes de NBIA avec une p-value < 0,01. Parmi ces 8 gènes, 4 ont retenu notre attention de par leur rôle et leur spectre phénotypique associé. L'analyse de chaque gène et du variant correspondant est présentée dans le Tableau 23.

Gène	p-value	Phénotype associé	Variant	Interprétation du variant
<i>TF</i>	0,007	Associé à l'hypo-transferrinémie	g.133754502G>A	Variant synonyme classé probablement bénin sur ClinVar, non retenu
<i>SNCA</i>	0,0083	Maladie de Parkinson	g.89725318_89725319insAAAA	Duplication dans un track de T fréquente, non retenue
<i>FASN</i>	0,0091	Associé aux troubles du spectre de l'autisme et aux encéphalopathies épileptiques	g.82087802T>G	Variant faux sens non décrit, prédit bénin par les logiciels de prédictions, distance de Grantham faible à 38. Non retenu.
<i>SLC11A2</i>	0,01	Associé à l'anémie microcytaire et l'hémochromatose	g.51000345T>C	Variant synonyme fréquent en population générale, décrit bénin sur ClinVar, non retenu

Tableau 23 : variants identifiés avec le filtre GTEX et leur interprétation

4.3.4.2.2.3 Filtre sur GTEX

La présence de variants dans les 176 gènes les plus exprimés dans les zones cérébrales d'intérêt a été recherchée chez notre patient, et a permis de retrouver des variants présents dans 14 gènes, dont 4 ont retenu notre attention, ils sont présentés dans le Tableau 24.

Gène	Phénotype associé	Variant	Interprétation du variant
<i>GFAP</i>	Maladie d'Alexander	g.44907331C>T	Variant en 3'UTR non retenu car fréquent en population générale et classé probablement bénin à deux reprises sur ClinVar
<i>FTH1</i>	Associé à des accumulations de fer et à la maladie de Parkinson	g.61967630_61967631 insTCTCATC AGAGACTCT	Insertion en 5'UTR, non retenu car artefact.
<i>KIF5A</i>	Paraparésie spastique	g.57567626G>A	Variant intronique, non retenu car fréquent en population générale et classé à 3 reprises probablement bénin sur ClinVar
<i>TF</i>	Associé à l'hypo-transferrinémie	g.133754502G>A	Variant synonyme, classé sur ClinVar bénin / probablement bénin, et présent chez 614 individus à l'état hétérozygote donc non retenu

Tableau 24 : variants identifiés dans les gènes avec le filtre GTEX et leur interprétation

4.4 Rentabilité du panel

On constate donc, à la lumière des données présentées précédemment, que le profil des patients pour lequel un ou des variants pathogènes sont mis en évidence par le panel NBIA diffère des patients sans diagnostic. Le point principal de différence est l'âge, avec un âge au début de la maladie significativement plus élevé pour les patients sans diagnostic ($p=1,99.10^{-18}$, test unilatéral de Student).

On constate également que le rendement diagnostique diffère en fonction de l'âge des premiers symptômes, avec un rendement diagnostique à 71% quand les premiers symptômes débutent avant l'âge de 6 ans, puis ce rendement diminue, en se situant autour de 40% quand les symptômes débutent entre 6 et 30 ans, et chute à 7% pour la classe d'âge 30-60 ans (pourcentages représentés sur la Figure 49). Le patient le plus âgé de la série ayant eu un diagnostic moléculaire grâce au panel avait 55 ans lors de ses premiers symptômes.

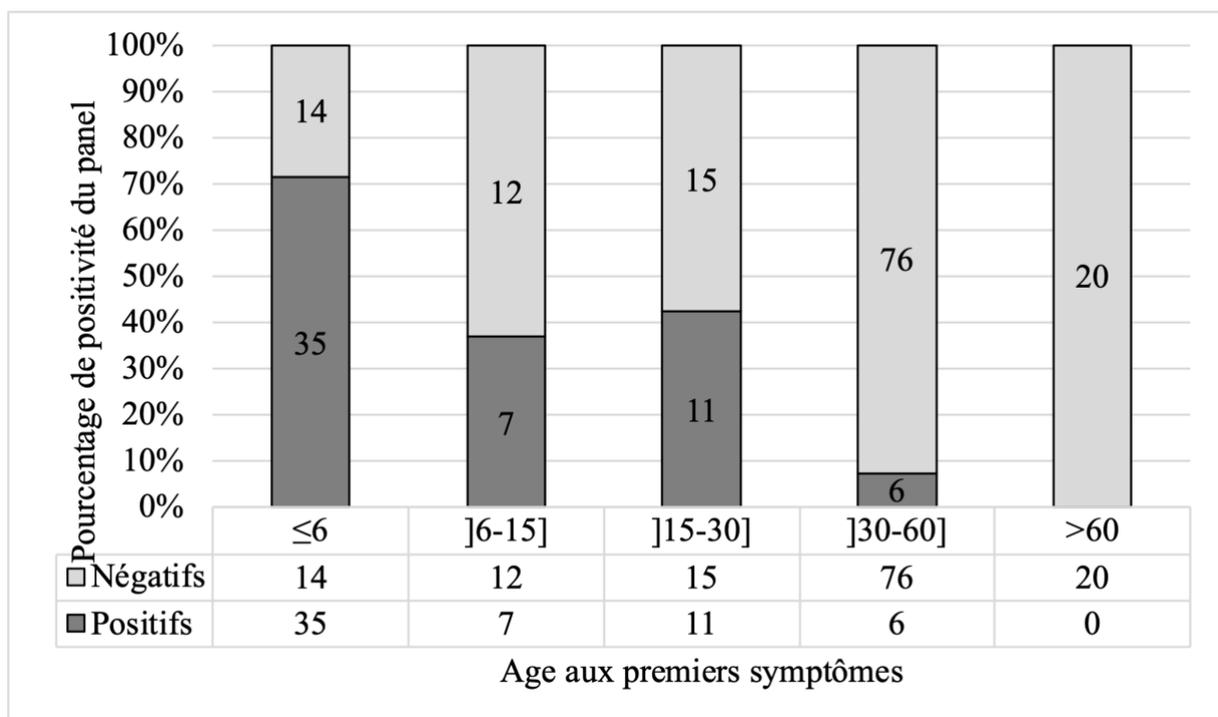


Figure 49 : pourcentage de rentabilité du panel (en ordonnées) en fonction de l'âge des premiers symptômes (en abscisses)

On constate également que la rentabilité du panel varie avec les années de réalisation, avec un rendement diagnostique atteignant les 50% entre 2015 et 2019 (Figure 50). Le rendement diagnostique diminue sur les 3 dernières années, mais le nombre total de patients analysés augmente fortement (100 patients analysés entre 2019 et 2021 contre 29 entre 2017 et 2019), pouvant expliquer cette baisse de rentabilité.

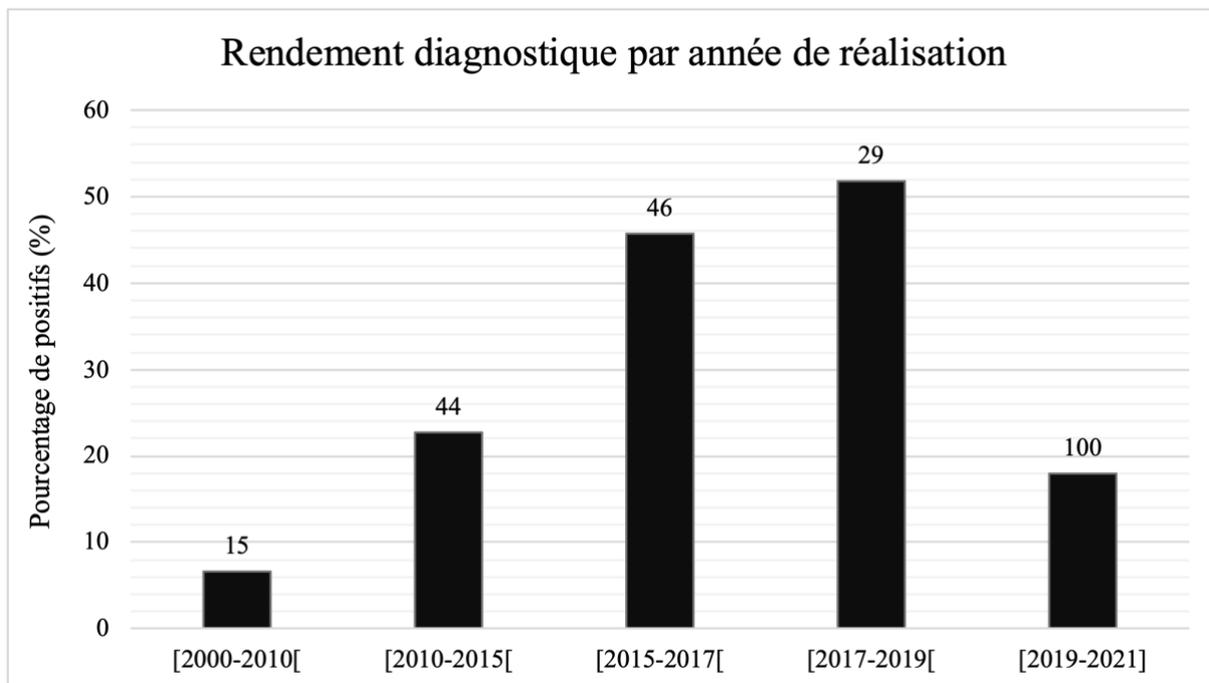


Figure 50 : Rendement diagnostique du panel (en ordonnées) en fonction de l'année de réalisation (en abscisses)

5 DISCUSSION ET CONCLUSION

5.1 Patients du laboratoire bordelais avec panel NBIA positif

La mise en place du panel NBIA a permis de poser un diagnostic moléculaire pour 63 patients, pour un nombre total de 232 analyses réalisées. Un conseil génétique adéquat a pu être fourni pour ces familles.

5.1.1 Concordance avec les données de la littérature

Les données de ce panel permettent, au sein de chaque sous-type de NBIA, de confirmer celles de la littérature. Il paraît difficile de tirer des conclusions statistiques sur des petits effectifs, néanmoins la plupart des patients analysés présentaient des phénotypes et des données génétiques similaires à ceux rapportés, et présentés dans la partie revue de la littérature de cette thèse. Les données résumées de notre série sont regroupées dans le Tableau 1. La comparaison des données des cas atypiques avec la littérature est présentée dans la section suivante.

5.1.2 Présentations atypiques et apport du panel

Des cas atypiques ont été diagnostiqués grâce au panel, il s'agissait notamment de patients avec présentation clinique et paraclinique typique de NBIA, dont le résultat génétique n'était pas attendu, donnant toute sa place au panel et à l'analyse simultanée des 9 gènes. Cette situation a été retrouvée à plusieurs reprises.

5.1.2.1 *Neuroferritinopathie de début focal et dépôts de fer asymétriques*

Le premier cas atypique diagnostiqué par le laboratoire de biologie moléculaire était celui d'un patient avec un début focal de neuroferritinopathie (seulement le pied droit) et asymétrique à l'IRM, avec une prédominance des dépôts de fer sur le globus pallidus gauche. Les symptômes de ce patient sont restés stables pendant plus de 10 ans, permet de prouver que des symptômes neurologiques focaux permanents peuvent être une présentation initiale de neuroferritinopathie (144).

Dans la littérature, on retrouve des symptômes asymétriques pour quasiment la moitié des patients atteints de neuroferritinopathie (63% des patients d'une série de 41 patients porteurs de la duplication la plus fréquente, c.460dup (145)). Des dépôts de fer asymétriques à l'IRM cérébrale ont également été décrits chez 2 patients, avec une corrélation entre la localisation des symptômes focaux et les dépôts intracérébraux de fer (101,146).

5.1.2.2 *Un nouveau mode de transmission de MPAN*

Un nouveau mode de transmission de MPAN a été identifié grâce au panel, avec des variants à l'état hétérozygote dans le gène *C19orf12*. La première description dans la littérature d'une forme hétérozygote remonte à 2018, par une équipe milanaise, qui rapportait une enfant

présentant un décalage léger dans ses acquisitions, puis des troubles de l'équilibre dès l'âge de 5 ans et une dystonie, s'aggravant à la fin de l'adolescence. Son IRM cérébrale retrouvait des hypointensités dans la substance noire et les globi pallidi, ainsi que la lamina interne médullaire, et des dépôts dans les noyaux sous thalamiques. Les analyses génétiques ont mis en évidence un variant non-sens *de novo* dans l'exon 3 de *C19orf12*, échappant au *non sense mediated decay* (pas de diminution de la quantité d'ARNm par RT-PCR) (147). Plusieurs cas avaient précédemment été décrits, mais étaient présentés comme des patients où le second variant dans *C19orf12* n'avait pas été identifié (148,149). Ces données ont été confirmées par l'équipe de Susan Hayflick à Portland, dans deux grandes familles, avec au total 7 patients présentant des formes hétérozygotes de MPAN, ainsi que 2 patients isolés avec des variants *de novo* dans *C19orf12*. L'ensemble des variants identifiés étaient des non-sens, dans l'exon 3. Les présentations cliniques décrites étaient similaires aux formes homozygotes (67).

Pour les patients identifiés par le panel bordelais, les présentations cliniques étaient variées et différaient des formes homozygotes chez certains patients. Il y avait deux grands types de présentations, la forme classique, ressemblant en tous points à la forme homozygote, et la forme tardive, avec une présentation de type démence frontotemporale/ atteinte du premier motoneurone. Les variants étaient également des non-sens dans l'exon 3. Deux des patients était porteurs du variant à l'état de mosaïque (44% des lymphocytes sanguins pour une des patientes ; 20% des cellules cérébrales, prélevées au niveau du cortex et des noyaux gris centraux pour l'autre patient). Leurs symptômes étaient tardifs. Des études fonctionnelles sont actuellement en cours sur les fibroblastes de ces patients, en comparaison à des fibroblastes témoins et à des fibroblastes de patients atteints de MPAN classique avec des variants homozygotes.

5.1.2.3 *BPAN atypique*

Des variants atypiques ont été identifiés par le panel chez une patiente, il s'agit d'une femme avec une déficience intellectuelle sévère, n'ayant pas acquis le langage, qui présentait une ataxie, une hypertonie pyramidale et des mouvements dystoniques. L'IRM mettait en évidence une image en œil de tigre à l'âge de 31 ans. Elle avait 45 ans au moment du diagnostic génétique. Celui-ci a mis en évidence un variant d'épissage dans *WDR45*, ainsi qu'un variant faux sens présent à l'état hétérozygote dans *PLA2G6*.

Le variant dans *WDR45* entraîne un décalage du cadre de lecture, et un saut de l'exon 11 (vérifié par séquençage de l'ARNm), introduisant un codon stop prématuré dans le dernier exon, expliquant l'échappement du transcrit au système de *nonsense mediated decay*. Ce variant est associé à un biais d'inactivation de l'X évalué à 87%. Le variant dans *PLA2G6* a déjà été

rapporté comme pathogène à deux reprises sur ClinVar (RCV000853336.1 et RCV000255821.1). La question soulevée est celle de l'imputabilité de ces deux variants dans son phénotype tardif de BPAN. Les analyses fonctionnelles ont montré une imputabilité du variant dans *WDR45*, cependant, le rôle du variant présent dans *PLA2G6* pourrait être un élément expliquant la sévérité du phénotype. Il faudrait réaliser des analyses fonctionnelles afin d'avoir plus d'arguments en ce sens.

Enfin, pour les patients de sexe masculin décrits dans notre série (n=4), les IRM étaient anormales, avec des dépôts de fer dans les noyaux gris centraux, alors que dans la littérature les IRM des patients de sexe masculin montrent le plus souvent une atrophie globale, un retard de myélinisation et de façon inconstante des dépôts de fer touchant les globi pallidi et la substance noire (150). Cependant, le biais majeur est que la porte d'entrée dans notre panel est le diagnostic de NBIA, nécessitant d'avoir dépôts de fer visibles à l'IRM cérébrale. Dans l'article de Takano *et al.*(150), qui réalise une revue de la littérature des hommes atteints de BPAN, 6 patients sur 11 ont des dépôts de fer dans les noyaux gris centraux. Les âges de réalisation des IRM sont cependant précoces (avant 10 ans pour la plupart des patients). On peut émettre l'hypothèse que les hommes atteints de BPAN, à l'instar des femmes, ne présentent des dépôts intracérébraux de fer que tardivement au cours de l'évolution de leur maladie. Les hommes diagnostiqués BPAN via une porte d'entrée déficience intellectuelle / encéphalopathie épileptique ont le plus souvent bénéficié d'un séquençage d'exome ou d'un panel axé sur la déficience intellectuelle / l'épilepsie, et ce précocement dans leur maladie. Les variants identifiés chez les hommes de la série étaient un variant affectant le premier nucléotide, un faux-sens, et une délétion de deux paires de bases dans l'intron 8 à l'état de mosaïque. Les données de ségrégation n'étaient malheureusement pas disponibles pour ces patients. Les données de la littérature indiquent que les variants sont principalement *de novo*, ou rarement hérités de la mère, et sont constamment des variants entraînant un codon stop ou un décalage du cadre de lecture (150).

5.1.2.4 Une forme extrêmement tardive de PLAN

Un patient présentant une forme très tardive de PLAN a été identifié. Ses premiers symptômes ont débuté à l'âge de 31 ans, contrastant avec les formes classiquement décrites, débutant dans la petite enfance. Son atteinte était dominée par des symptômes cérébelleux, associés à une atrophie cérébelleuse marquée à l'IRM. Une des pistes pouvant expliquer cette forme tardive réside dans les variants identifiés lors du panel. Le premier variant est un faux-sens, déjà décrit à 4 reprises dans la littérature comme associé à des formes classiques de PLAN de début infantile (47,151,152). Le second variant identifié chez ce patient est un variant d'épissage,

associé selon les logiciels de prédiction à un saut de l'exon 7. Ce variant est absent des bases de données de patients et de témoins. Le laboratoire de biologie moléculaire est en attente de nouveaux prélèvements chez ce patient afin de pouvoir réaliser un séquençage de l'ARNm de *PLA2G6*, afin de pouvoir confirmer ou non le saut de l'exon 7 prédit. Il est probable que ce variant joue un rôle « hypomorphe » et soit responsable du phénotype tardif de NBIA chez ce patient, mais il convient d'attendre les résultats du séquençage avant de l'affirmer.

Ces différentes présentations de patients, qui représentent un pourcentage important du panel (14%, n=9), mettent en lumière le rôle de l'analyse simultanée de plusieurs gènes dans les NBIA. Ces présentations atypiques permettent d'élargir le spectre phénotypique pour chaque type de NBIA, et également de nuancer la pénétrance et l'expressivité des variants identifiés dans les familles.

5.1.3 Rentabilité du panel et hypothèses

L'analyse des données obtenues grâce à ce panel permet de souligner l'importance de critères d'éligibilité stricts pour la réalisation de ce panel. La rentabilité en fonction de l'âge aux premiers symptômes permet effectivement de mettre en évidence une rentabilité nulle du panel après 55 ans, et ce malgré 36 patients analysés. Pour ces patients-là, il existe plusieurs explications possibles, détaillées dans la partie 5.3.

5.2 Patients du laboratoire bordelais avec panel NBIA négatif

5.2.1 Analyse des données des patients

Pour les patients sans diagnostic moléculaire à l'issue de la réalisation du panel, le critère principal permettant de les distinguer des patients avec un diagnostic semble être l'âge aux premiers symptômes. Il est en moyenne de 40,9 pour les patients sans diagnostic génétique, avec un écart type de 20, versus de 12,4 ans, avec un écart type de 13 pour les patients ayant un diagnostic à l'issue du panel. Ces chiffres sont significativement différents ($p=1,99.10^{18}$, test unilatéral de Student).

La comparaison de ces deux groupes de patients reste néanmoins compliquée du fait de la variabilité des présentations des NBIA en fonction du gène impliqué.

Il apparaît cependant crucial que les patients soient examinés et interrogés par des cliniciens experts, afin de retracer en détail l'histoire clinique, qui peut être d'un seul tenant ou évoluer en plusieurs phases. L'examen clinique doit également être complet, à la fois sur le plan neurologique, mais également sur le plan général, avec la recherche de critères dysmorphiques mineurs pouvant orienter vers d'autres diagnostics. Les IRM cérébrales doivent être réalisées et/ou relues par des neuroradiologues experts, ayant l'habitude de l'analyse des dépôts intracérébraux de fer, afin de réaliser les séquences adéquates et de ne pas confondre le fer avec un autre métal, ou avec une accumulation physiologique de fer liée à l'âge.

Le rôle des centres de compétences / centres de références de maladies neurogénétiques prend alors toute sa place pour aider les cliniciens à réaliser les analyses génétiques adéquates. La liste et les coordonnées de ces centres peuvent être retrouvées sur le site internet de la Filière BrainTeam, qui fait partie d'une des 23 filières de Santé Maladies Rares, et qui coordonne les actions des différents centres de référence prenant en charge les maladies rares du système nerveux central.

5.2.2 Familles passées en exome : pistes dégagées

A l'issue de l'analyse des 4 exomes en trio, il n'y a pas eu de piste monogénique forte identifiée, soit dans un gène connu de NBIA, soit dans un nouveau gène non impliqué à ce jour dans les NBIA. Cependant, plusieurs pistes de recherche ont été dégagées pour ces familles.

5.2.2.1 *Patiente n°1*

A l'issue de l'analyse de l'exome de la patiente n°1, une hypothèse a été soulevée grâce au filtre GTEX (qui sélectionne les variants dans les gènes fortement exprimés dans les noyaux gris centraux entre autres). Il s'agit du gène *PRRT2*, qui est un gène connu pour donner des dyskinésies paroxystiques kinésigéniques, ainsi que des mouvements choréoathétosiques de

l'enfant. Des crises convulsives de l'enfant ont également été décrites. Ce gène a été identifié par une équipe française en 2012, qui rapportait que la grande majorité des cas étaient liés à un variant récurrent, une duplication d'une base entraînant un décalage du cadre de lecture et un codon stop prématuré (NM_145239, c.649dupC, p.Arg271ProfsX8) (153). Ce gène code pour la protéine Prrt2, qui est impliquée dans la formation axonale à partir du corps neuronal. Cette protéine est fortement exprimée dans le cervelet et le cortex cérébral, et plus faiblement dans les noyaux gris centraux. Ces données ont été complétées au cours du temps, et aucun variant dans la zone 5'UTR n'a été rapporté comme pathogène, ni de dépôts intracérébraux de fer (154). Le variant retrouvé par l'exome chez la patiente n°1 est quant à lui un variant en 5'UTR, une délétion-insertion d'une base, non décrite dans la littérature.

L'analyse de ce variant a été complétée d'un séquençage Sanger, étant donné la faible profondeur de lecture dans cette région de l'exome (seulement 6 reads), ainsi que la nécessité de confirmer ce variant par une méthode de séquençage indépendante. Le séquençage Sanger n'a pas retrouvé ce variant, infirmant donc sa présence. Il paraissait cependant difficile de relier l'accumulation intracérébrale de fer de cette patiente avec ce variant, au vu de l'absence de tels phénotypes décrits dans les bases de données et dans la littérature, ainsi qu'au vu de la fonction de ce gène. Cette situation illustre donc l'importance d'une profondeur de lecture importante lors de la réalisation d'un séquençage à très haut débit, ainsi que la réalisation d'un séquençage indépendant devant tout variant d'intérêt.

5.2.2.2 Patient n°2

L'histoire clinique du patient n°2 évolue en plusieurs phases, avec initialement un retard léger des acquisitions, puis des symptômes psychiatriques dans la 2^{ème} décennie et des symptômes moteurs dans la 4^{ème} décennie. La question de l'imputabilité des neuroleptiques dans ses symptômes moteurs a évidemment été soulevée, mais ceux-ci persistaient lors des fenêtres thérapeutiques et leur intensité était disproportionnée par rapport aux symptômes neurologiques couramment observés chez les patients sous neuroleptiques au long cours. Enfin, une suspicion d'encéphalite auto-immune a été posée suite à la réalisation d'un TEP-scanner cérébral mettant en évidence un hypométabolisme frontal. Des cures de cyclophosphamide ont été débutées, permettant une amélioration clinique, partielle également. Il n'y a pas eu d'anticorps anti-neuronaux retrouvés dans le sang ou le liquide céphalo-rachidien.

Au total, l'évolution clinique de ce patient n'oriente pas vers un type précis de NBIA, mais ce patient reste dans ce cadre, les diagnostics suspectés d'encéphalite ou de mouvements anormaux liés aux neuroleptiques n'expliquant pas les dépôts marqués de fer sur les IRM cérébrales réalisées. Le séquençage d'exome n'a pas mis en évidence de variant d'intérêt, ou

de piste de recherche. Il conviendra de réaliser des relectures régulières de cet exome, et de proposer à ses parents le séquençage de génome en trio (le patient étant décédé).

5.2.2.3 Patient n°3

Concernant le patient n°3, l'histoire clinique débute tardivement, avec des mouvements anormaux survenant dans la cinquième décennie. Des éléments clinico-biologiques importants sont également la présence d'une hépatomégalie et d'une hyperferritinémie à 2 fois la normale et stable, avec un CST normal, permettant d'exclure le diagnostic d'hémochromatose. La cause de son hépatomégalie est à ce jour indéterminée. Le séquençage d'exome n'a pas permis de retrouver de variant expliquant ses symptômes, ou de piste de recherche. Cependant, comme précisé dans la description clinicobiologique de ce patient, le polymorphisme TT du gène *CP* a été identifié chez lui grâce au panel NBIA. Le rôle de ce polymorphisme dans l'accumulation intracérébrale de fer est discuté dans la partie 5.3.7.

5.2.2.4 Patient n°4

Le patient n°4 a une présentation plus précoce de NBIA, avec un début moteur léger dans la petite enfance, s'aggravant rapidement à l'adolescence. Une des atypies de sa présentation est la présence de calcifications au scanner cérébral, plus petites que les dépôts de fer identifiés sur son IRM cérébrale. L'analyse de l'exome n'a pas permis de mettre en évidence de variant d'intérêt, hormis le variant dans *PANK2* précédemment identifié, mais à l'état hétérozygote seulement, et hérité de son père. Ce variant a été rapporté chez un patient dans la littérature, à l'état hétérozygote composite, en trans d'un autre variant faux sens fréquemment impliqué chez les patients atteints de PKAN. Le patient présentait une forme atypique et tardive de PKAN, avec un tremblement des membres supérieurs étant apparu à l'âge de 25 ans, puis des mouvements dystoniques et une dysarthrie à l'âge de 50 ans. Il avait le signe de l'œil de tigre à l'IRM cérébrale. L'équipe prenant en charge ce patient a montré que ce variant n'avait pas d'impact sur l'activité catalytique de la protéine PANK2 (155). La base de données GnomAD rapporte 5 individus sains porteurs de ce variant à l'état hétérozygote (et aucun à l'état homozygote). La question de l'imputabilité de ce variant dans le phénotype du patient n°4 reste donc en suspens, du fait de l'absence de second variant détecté et de preuve fonctionnelle de la pathogénicité de ce variant. Une des hypothèses peut être un effet hypomorphe de ce variant, combiné à d'autres facteurs de susceptibilité non identifiés par l'exome réalisé.

5.3 Quelles sont les hypothèses pour les patients sans diagnostic après le séquençage d'exome ?

Il existe plusieurs hypothèses permettant d'expliquer l'absence de diagnostic moléculaire à l'issue du séquençage d'exome.

5.3.1 Erreurs diagnostiques

La première est celle de l'erreur diagnostique, ou du diagnostic redressé par l'évolution de la maladie. Les anomalies IRM peuvent être discrètes au début et se compléter d'autres anomalies au cours du temps, et le tableau clinique peut se modifier. Il arrive donc que le diagnostic de NBIA initialement posé soit infirmé par la suite. Cela a été le cas pour 8 patients de la série (4,7%).

Il existe plusieurs diagnostics différentiels aux NBIA, qui se différencient principalement sur l'imagerie cérébrale.

Les calcifications des noyaux gris centraux (maladie de Fahr) peuvent être prises à tort pour des NBIA. Le calcium apparaît hypointense en T2, et se différencie du fer au scanner, où il apparaît hyperdense. La réalisation systématique d'un scanner cérébral pour les patients avec une suspicion de NBIA permet d'écarter ce diagnostic.

La maladie de Wilson est une maladie génétique résultant d'un désordre du métabolisme du cuivre. L'IRM cérébrale peut ressembler à celle d'un patient atteint de NBIA, on retrouve sur celle-ci des hyperintensités en pondération T2 au niveau des noyaux gris centraux, en particulier le striatum, le tronc cérébral et le cervelet. Une atrophie sous-corticale est souvent visible. Les hyperintensités T2 au niveau du mésencéphale, présentes sur les coupes axiales, sont hautement spécifiques de la maladie de Wilson. Le bilan du cuivre montre un cuivre libre sérique augmentée, une cuprurie augmentée, et une céruléoplasminémie abaissée. Une analyse de l'IRM cérébrale par un neuroradiologue expert ainsi qu'un bilan biologique large permettent d'écarter ce diagnostic.

Les anomalies de transport du manganèse peuvent également être responsables de dépôts dans les noyaux gris centraux. Ils sont hyperintenses en T1 et iso-intenses en T2, et se différencient donc par leur caractère iso-intense en T2 des NBIA (156).

Enfin, les cytopathies mitochondriales telles que le syndrome de Leigh peuvent donner des anomalies de signal au niveau des noyaux gris centraux. Ce sont principalement des hyperintensités T2, qui dépassent les putamen. L'atteinte des colliculi est hautement spécifique des maladies mitochondriales. Enfin, des leucodystrophies sus et/ou sous tentorielles sont fréquemment associées. La spectro-IRM retrouve fréquemment un pic de lactates (157).

5.3.2 Connaissances insuffisantes des maladies ultra-rares

La deuxième hypothèse est une connaissance incomplète de ces maladies ultra-rares, avec peu de cas décrits dans la littérature médicale. On sait que pour poser un diagnostic de certitude, il faut qu'il y ait d'autres patients rapportés dans les bases de données ou la littérature avec un variant dans le même gène et un phénotype similaire, ce qui peut être compliqué à identifier quand la maladie est ultra rare, et potentiellement hétérogène sur le plan phénotypique. Ce problème tend à se résoudre avec l'utilisation fréquente du séquençage à haut débit (panel, séquençage d'exome, de génome) et les initiatives internationales de « matching », comme la plateforme GeneMatcher entre autres.

De ce fait, la connaissance des pathologies monogéniques reste incomplète, et il existe encore de nouveaux gènes, pour l'instant non impliqués en pathologie humaine, ou impliqués dans d'autres pathologies, qui seront probablement reliés dans les années à venir à des maladies ultra rares. L'exemple du gène *MECR* est parlant et a été évoqué dans l'analyse de l'exome du patient n°3. Il s'agit d'un gène impliqué dans le recyclage du CoA, dont la dysfonction entraîne une réduction de la lipoylation de protéines ciblées. Le phénotype associé à ce jour est une dystonie progressive, avec une surcharge en fer dans les noyaux gris centraux. Au moment de la réalisation de l'exome du patient n°3, le gène *MECR* n'était pas encore reconnu comme un gène responsable de NBIA, mais seulement suspecté d'être associé aux NBIA. Un article paru au cours de l'année 2021 a rapporté un nouveau patient présentant un phénotype similaire et un variant faux sens à l'état homozygote dans ce gène, permettant de le classer comme gène responsable de NBIA (OMIM#617282), et d'acter le nom de MePAN pour *Mitochondrial enoyl CoA reductase Protein Associated Neurodegeneration* (158).

Il est donc important de réaliser des relectures régulières des exomes initialement négatifs, à un rythme annuel, ou bisannuel, afin de pouvoir trouver des variants d'intérêt dans des gènes nouvellement impliqués en pathologie humaine.

5.3.3 Héritéité complexe

Une troisième hypothèse est celle d'un mode de transmission atypique. L'hypothèse d'un digénisme, ou de variants hypomorphes augmentant la susceptibilité à l'accumulation intracérébrale de fer, est également une des pistes pour ces patients sans diagnostic. Dans certaines maladies récessives, des variants avec une fréquence modérée en population générale peuvent être responsables d'un phénotype plus léger quand ils sont associés à un autre variant pathogène. On peut notamment citer l'exemple de l'albinisme oculocutané de type 1, lié à des variants dans le gène *TYR*. Un variant, présent chez environ 26% de la population caucasienne,

est associé à des formes modérées d'albinisme oculocutané quand il est situé en trans d'un variant pathogène (159).

5.3.4 Limitations techniques du séquençage d'exome

La couverture de l'exome n'est pas parfaitement uniforme, et il existe des exons, ou parties d'exons non couverts ou très peu couverts. Le séquençage du génome, plus uniforme, est une possibilité pour pallier ce problème.

Les variants dans des zones non codantes, ou introniques avec effet codant, des variants sur des gènes d'ARN, des variants dans des régions régulatrices, ou des zones soumises à l'empreinte, des éléments mobiles et rétrotransposons ne sont pas bien visibles sur l'analyse d'exome car peu ou non capturés lors de la préparation des librairies. Le séquençage de génome permet également de pallier ce défaut, même si l'analyse de ces variants reste compliquée à ce jour, du fait de la faible quantité de données d'interprétation disponibles. Enfin, il existe des variants exoniques non retrouvés, ou avec un risque d'artefact important sur les exomes, il s'agit des expansions et des contractions, et des variants somatiques. Les variants structuraux sont également difficilement retrouvés en exome. Le séquençage de génome en « *long reads* » peut aider à identifier les variants structuraux, et le séquençage avec une profondeur de lecture très importante identifie mieux les variants en mosaïque.

Enfin, le séquençage d'exome en trio ne permet pas de réaliser une analyse précise de l'ADN mitochondrial, capturé partiellement lors de l'étape de la préparation des libraires, et en général exclu lors de l'étape de filtration des variants. Les maladies mitochondriales font partie des diagnostics différentiels cités ci-dessus, et de nombreuses fonctions mitochondriales sont altérées dans les NBIA. On peut donc imaginer que des altérations de l'ADN mitochondrial puissent être responsables de NBIA, et qu'un séquençage de l'ADN mitochondrial soit réalisé en complément du séquençage d'exome. Une optimisation bioinformatique à la suite du séquençage de génome peut pallier ces défauts techniques.

5.3.5 Preuves fonctionnelles manquantes pour les gènes candidats

Enfin, quand un gène candidat est identifié par les techniques de séquençage à haut débit, il peut être compliqué de prouver son implication dans le phénotype du patient. Commence alors la recherche de preuves fonctionnelles, pour montrer que l'altération de ce gène est en lien avec le phénotype. Les approches sont différentes en fonction du rôle présumé du gène, et peuvent consister en une quantification de la protéine, un séquençage de l'ARN messenger, entre autres. Les « -omiques » regroupent différentes méthodes d'analyse permettant de faire le lien entre la

séquence ADN d'un gène et le phénotype associé, en analysant par exemple l'ARN messager (transcriptomique), les protéines (protéomique), etc.

5.3.6 Accumulation intracérébrale de fer liée à l'âge

Il y a une perturbation de l'homéostasie du fer en lien avec le vieillissement physiologique, et qui entraîne une augmentation des niveaux intracérébraux de fer, conduisant à une ferroptose. Plusieurs études ont été réalisées afin de quantifier cette accumulation de fer physiologique, et de pouvoir la distinguer des accumulations pathologiques retrouvées dans de nombreuses maladies neurodégénératives. Une étude chinoise datant de 2008 a réalisé une cartographie quantitative de susceptibilité au fer du cerveau, *in vivo*, en réalisant des IRM cérébrales sur des sujets sains d'âge variable, allant de 22 à 78 ans. Ils ont mis en évidence une accumulation de fer liée au vieillissement dans les zones suivantes : les putamen, les noyaux rouges et la substance blanche frontale (160). De nombreuses études similaires ont été réalisées depuis, confirmant l'accumulation intracérébrale de fer physiologique liée à l'âge dans ces zones cérébrales. Une étude plus récente nuance l'accumulation de fer dans les globi pallidi comparativement aux autres structures anatomiques cérébrales, et émet l'hypothèse d'une accumulation physiologique de fer dans les globi pallidi jusqu'à environ 40 ans, puis une stabilité de la quantité de fer dans cette zone (161). Cette accumulation de fer est progressive, et peut être visualisée avec des IRM de puissance 1,5 Tesla dès l'âge de 3 ans sur les séquences SWI (11).

Une des questions clés est la capacité à réaliser la distinction entre une accumulation physiologique et pathologique de fer chez les sujets âgés. On retrouve en effet des sujets nettement plus âgés dans la série bordelaise sans diagnostic moléculaire. La part d'une accumulation physiologique de fer est donc certainement importante chez ces patients développant de façon tardive des symptômes neurologiques. Il n'apparaît à l'heure actuelle pas possible de déterminer le poids de cette accumulation physiologique, et celle de l'accumulation pathologique, entraînant des symptômes neurologiques chez des patients âgés.

5.3.7 Susceptibilité génétique à l'accumulation intracérébrale de fer, et le rôle suspecté de variants hypomorphes

Un variant dans *CP* a attiré notre attention puisqu'il est retrouvé fréquemment chez les patients sans diagnostic moléculaire à l'issue du panel. Il s'agit du variant NM_000096.3; c.1632A>T, p.Asp544Glu, présent à l'état hétérozygote (génotype A/T) ou homozygote (génotype T/T). Ce variant est un faux sens situé dans l'exon 9 du gène *CP*, et concerne un acide aminé très conservé. L'écart physicochimique entre l'asparagine et la glutamine est peu important

(distance de Grantham calculée à 45). Ce variant a été décrit comme associé à la maladie de Parkinson et à des niveaux élevés de fer dans la substance noire en 2004 (162).

La fréquence du génotype A/T dans la population générale est estimée à 23,4%, et celle du génotype T/T à 4,4% selon la base de données ESP_Cohort_Population. Des chiffres similaires sont retrouvés dans les autres bases de données (ExAc, 1000Genomes).

Dans la cohorte de patients sans diagnostic, le génotype A/T est retrouvé avec une fréquence de : $6/169 = 3,5\%$ et le génotype T/T avec une fréquence de : $7/169 = 4,1\%$. Ces chiffres ne sont donc pas plus élevés que dans la population générale.

En conclusion, les génotypes A/T et T/T du variant D544E de la céruléoplasmine ne semblent pas être plus fréquents dans notre série qu'en population générale, cependant on ne peut exclure le fait que ce variant soit un facilitateur de l'accumulation de fer intracérébrale. En effet, la présence du génotype A/T chez des patients atteints de maladie de Parkinson serait associé à une diminution légère du taux de céruléoplasmine, et à une diminution nette de l'activité ferroxidasique de la céruléoplasmine, et représenterait un facteur de vulnérabilité au stress oxydatif induit par le fer (163). L'équipe lilloise du Pr Devos a montré l'efficacité de la défériprone chez les patients atteints de maladie de Parkinson, avec une plus grande efficacité chez les patients porteurs du génotype A/T. La défériprone, administrée pendant 12 ou 18 mois chez 40 patients, a permis de réduire les niveaux de fer dans la substance noire, ainsi que le score moteur UPDRS (*Unified Parkinson Disease Rating Scale*) (164).

5.4 L'accumulation intracérébrale de fer : un dénominateur commun à de nombreuses maladies neurodégénératives

De nombreuses maladies neurodégénératives sont liées à des accumulations intracérébrales de fer. On peut citer en premier lieu l'ataxie de Friedreich, une maladie génétique de transmission autosomique récessive, liée à une expansion de triplets dans le gène de la frataxine (*FXN*). Au niveau clinique, l'ataxie de Friedreich se caractérise par une ataxie progressive, une abolition des réflexes ostéo-tendineux des membres inférieurs, ainsi qu'une irritation pyramidale, une cardiomyopathie hypertrophique, et de façon inconstante un diabète. Les premiers symptômes surviennent en général au début de l'adolescence. Sur le plan physiopathologique, le déficit en frataxine, qui est une protéine impliquée dans l'assemblage des centres fer-soufre, conduit à une accumulation intracellulaire de fer majeure. Les anomalies cellulaires conduisant à l'accumulation de fer semblent être proches des NBIA, et principalement liées à des anomalies de palmitoylation du récepteur à la transferrine, conduisant à une entrée massive de fer dans des cellules qui contiennent déjà du fer en excès. Le système de régulation post transcriptionnelle de l'homéostasie de fer, IRE-IRP, semble également être dérégulé dans l'ataxie de Friedreich, IRP2 se liant à une protéine à centre fer-soufre (165). A l'IRM cérébrale, on ne retrouve pas d'accumulation de fer aussi marquée que dans les NBIA, mais il a été montré qu'il y avait plus de fer dans les noyaux dentelés et les noyaux rouges que chez des contrôles (166).

Un autre parallèle intéressant à faire est celui de la maladie de Parkinson, une maladie neurodégénérative fréquente conduisant à des troubles moteurs tels qu'une rigidité et une bradykinésie, et non moteurs, avec une anosmie, une constipation, des troubles cognitifs progressifs entre autres. Au niveau physiopathologique, on retrouve au niveau de la substance noire une mort des neurones dopaminergiques, des dépôts d' α -synucléine, une accumulation de fer intracellulaire, une peroxydation lipidique et un niveau de stress oxydatif élevé. On retrouve de nombreux liens entre le métabolisme du fer, des lipides, et l'agrégation d' α -synucléine. L'accumulation intracellulaire de fer peut conduire à la ferroptose, une voie de mort cellulaire régulée, qui implique une accumulation létale de peroxydes lipidiques. Des essais sur des modèles animaux ont montré l'effet neuroprotecteur de molécules anti-ferroptotiques. Une molécule chélatrice du fer, la défériprone (également essayée dans le cadre de l'essai TIRCON pour le PKAN), a ralenti la progression de la maladie et amélioré la fonction motrice dans des essais cliniques (167).

D'autres maladies neurodégénératives sont également associées à une dérégulation de l'homéostasie du fer, notamment la maladie de Huntington, la maladie d'Alzheimer et la sclérose latérale amyotrophique. Cependant, les NBIA sont les seules maladies neurodégénératives avec des dépôts de fer visualisables de façon aussi nette à l'IRM cérébrale. Les causes génétiques des NBIA sont multiples et ne semblent pas liées directement, cependant les différents mécanismes physiopathologiques semblent être liés à des anomalies métaboliques au sens large dans les cellules nerveuses (fonction mitochondriale, métabolisme des lipides, autophagie, homéostasie du fer, ...), comme représenté sur la Figure 8 (28).

Une équipe londonienne a réalisé de la *whole transcriptome gene expression data*, afin d'essayer de mieux caractériser les interactions entre les différents gènes de NBIA, et les voies de signalisation intracellulaires dérégulées. Leur méthode a consisté à utiliser les données de 101 cerveaux de sujets sains, en étudiant 10 régions cérébrales différentes, et en séquençant les transcrits obtenus de ces régions. Ils ont ensuite réalisé une méthode appelée *weighed gene co-expression network analysis*, pour regrouper les gènes de NBIA de façon non supervisée. Cette méthode permet d'identifier des groupes de gènes co-exprimés et co-régulés, et peut également aider à trouver des signatures moléculaires spécifiques de cellules (168). Ils ont identifié que dans les noyaux gris centraux, il y avait un enrichissement en gènes responsables de NBIA (169). Ces réseaux de gènes NBIA sont enrichis en gènes de métabolisme du fer, et sont impliqués dans le fonctionnement des synapses et le métabolisme des lipides. Leurs données suggèrent que lorsqu'il y a une surcharge en fer, ces réseaux sont altérés. Ils ont également montré que pour les gènes de NBIA associés à des hypersignaux de la substance blanche (*FTL*, *FA2H*, *DCAF17*, *CP*, and *PLA2G6*), il y avait une expression très haute de ces gènes dans la substance blanche, ce qui n'était pas le cas pour *PANK2*, qui n'est pas associé à des anomalies de la substance blanche, faisant ainsi une corrélation pathologique. Le putamen est une des zones où l'enrichissement en gènes de NBIA est le plus important. Il y a également une sur-représentation des gènes du métabolisme du fer. Les gènes de NBIA et du fer sont donc interconnectés dans les noyaux gris centraux. Des modèles murins, combinés à leurs analyses d'enrichissement, leur font émettre l'hypothèse que l'excès intracérébral de fer dérègle les connexions entre gènes de NBIA dans les noyaux gris centraux, même en l'absence de variants pathogènes dans les gènes de NBIA. Ils dégagent également deux gènes candidats de NBIA, *RAB39B* et *UBQLN2* (169). Aucun variant dans ces gènes n'a été identifié suite à la réalisation des séquençages d'exome en trio chez les 4 patients décrits dans la section résultats.

Les NBIA sont donc bien un groupe de maladies, qui partagent de nombreux points communs physiopathologiques, et il paraît donc important de considérer ce groupe de maladies dans son ensemble à la fois sur le plan diagnostique et thérapeutique, tout en gardant en tête les spécificités propres à chaque gène. Il existe également des parallèles forts avec des maladies neurodégénératives plus fréquentes, notamment sur le plan des perspectives thérapeutiques.

5.5 Perspectives bordelaises dans le domaine des NBIA

5.5.1 Perspectives diagnostiques

Il existe plusieurs perspectives diagnostiques dans les NBIA. La première est l'ouverture, pour l'instant en « pré-indication », du séquençage d'exome ou de génome pour les patients sans diagnostic génétique à l'issue du panel 9 gènes, via les plateformes de séquençage à très haut débit Auragen et SeqOIA. Ce séquençage à très haut débit n'est pas accessible aux patients ayant débuté leur maladie après 60 ans.

Il existe également des initiatives européennes pour les patients sans diagnostic génétique à l'issue d'un séquençage à très haut débit. Solve-RD, pour « *solving the unsolved rare diseases* » est un projet de recherche visant à résoudre l'odyssée diagnostique dans les maladies rares, pour les patients atteints de maladies rares dont la cause moléculaire n'est pas encore connue. Solve-RD a plusieurs axes de travail. Le deuxième axe, intitulé « nouvelles causes moléculaires », a pour but d'utiliser plusieurs approches pour identifier de nouvelles causes moléculaires à des pathologies connues :

- La ré-analyse d'exomes et de génomes, avec des pipelines bioinformatiques conçus et validés par le groupe Solve-RD
- Des approches fonctionnelles utilisant les multi-omiques, pour valider des gènes candidats, via plusieurs méthodes.

Une des perspectives dans le domaine des NBIA est de participer à ce projet pour : 1/ ré-analyser des exomes et génomes de patients atteints de NBIA d'autres équipes européennes, 2/ fournir les données de séquençage à très haut débit des patients sans diagnostic moléculaire afin que d'autres équipes expertes puissent les analyser, après avoir obtenu le consentement du patient et/ou de sa famille.

Un panel comprenant 22 gènes responsables ou suspectés d'être responsables de NBIA a été développé au sein du laboratoire de recherche MRGM, par le Dr Fergelot et Christophe Hubert. Quelques dizaines de patients ayant initialement bénéficié du panel 9 gènes ont été analysés avec ce panel de 22 gènes, qui n'a pas permis de réaliser de nouveau diagnostic à ce jour.

5.5.2 Projets d'études fonctionnelles

Dans le domaine des NBIA, il y a plusieurs projets d'études fonctionnelles au sein du groupe de neurogénétique du laboratoire MRGM, qui seront renforcés dans l'avenir. Parmi ces projets, on retrouve :

- Un modèle levure permettant de valider les variants faux-sens dans *PANK2*

- Un travail sur le gène *WDR45* et sur son rôle dans l'autophagie, via des modèles cellulaires et un modèle levure
- Un travail sur le gène *C19orf12*, sur des fibroblastes de patients, avec une étude de la mitochondrie, de l'autophagie et du métabolisme du fer

Plusieurs perspectives sont envisagées à ces travaux de recherche, notamment de développer un modèle neurone, soit via des cellules souches pluripotentes induites, ou des modèles organoïdes. Enfin, sur le plan de la validation des variants identifiés dans le futur par des séquençages d'exome / de génome, des analyses fonctionnelles adaptées pourront être réalisées.

5.6 Perspectives thérapeutiques

Il n'existe pas de traitement curatif des NBIA à l'heure actuelle. Cependant, plusieurs pistes sérieuses sont actuellement à l'étude, soit dans le cadre d'essais cliniques, soit à l'état de recherche.

5.6.1 Chélation du fer

Une piste très prometteuse est la chélation conservatrice du fer. En effet, la nécessité de baisser le niveau intracellulaire de fer, sans induire une déplétion systémique, reste un défi majeur. Les traitements chélateurs du fer dits « classiques », comme la déféroxamine ou le déférasirox, piègent le fer intracellulaire, et conduisent donc à une déplétion globale en fer, qui est nécessaire pour les processus cellulaires essentiels, et conduit à une mauvaise tolérance clinique du traitement. Le but de la chélation conservatrice du fer est de diminuer le contenu en fer dans les cellules qui en contiennent en excès, pour le redistribuer dans d'autres zones de l'organisme afin d'éviter les carences liées au traitement (170). La déféripone est un chélateur conservateur du fer qui, à des faibles posologies, peut rentrer dans les cellules, diminuer le contenu en fer en le capturant et le transférer vers la transferrine extracellulaire. Son faible poids moléculaire, ainsi que son coefficient de partage octanol/eau et ses propriétés lipophiliques lui permettent de traverser aisément la barrière hémato-encéphalique. Ce traitement a été essayé dans la sclérose latérale amyotrophique, et permet une augmentation de la survie et une diminution de la quantité de fer mesurée dans le système moteur à l'IRM (171). Des résultats également encourageants ont été retrouvés chez les patients atteints de maladie de Parkinson, avec une amélioration du score moteur des patients, et une diminution du contenu en fer dans la substance noire à l'IRM cérébrale (164,170). Le profil de sécurité de la déféripone est bon, avec un risque rare de neutropénie/ agranulocytose. Dans les NBIA, plusieurs essais cliniques ont été réalisés pour les patients atteints de PKAN, et ont montré une diminution de la quantité de fer dans les noyaux gris centraux, ainsi qu'une tendance au ralentissement de la progression de la maladie, inconstante selon les études (39,171,172).

Il n'y a pas eu d'essai clinique utilisant la déféripone pour d'autres sous-types de NBIA, cependant il existe des données d'utilisation de la déféripone chez quelques patients non PKAN :

- Deux patients atteints de BPAN traités à la déféripone ont été rapportés. Ils ont été traités pendant 4 et 12 mois. Il n'y a pas eu d'amélioration clinique, et l'analyse de l'évolution des dépôts de fer à l'IRM n'a pas été réalisée (173,174)

- Deux patients atteints de MPAN sont rapportés, avec une amélioration sur la quantité de fer dans la substance noire mais sans amélioration clinique pour un des patients. Le traitement a été rapidement stoppé pour le deuxième patient du fait d'effets indésirables gastro-intestinaux (176,177)
- Un patient atteint de neuroferritinopathie traité pendant 2 mois a été rapporté, sans amélioration clinique notée (177)
- Dans l'acéruéoplasminémie, une cinquantaine de cas ont été rapportés dans la littérature. La surcharge en fer est systémique dans ce sous type de NBIA, permettant d'essayer des chélateurs du fer traditionnels. Cependant, l'effet clinique de ces thérapies chélatrices est variable en fonction des patients, avec une tendance à un effet neuroprotecteur quand elles sont administrées précocement chez les patients (178)

Au total, la défériprone a été utilisée dans le cadre d'essais cliniques seulement chez des patients atteints de PKAN, mais des données isolées font état d'une potentielle efficacité dans les autres types de NBIA. Une donnée physiopathologique supportant cette idée est la peroxydation lipidique majeure retrouvée dans toutes les NBIA, qui conduit à la ferroptose. La ferroptose étant particulièrement améliorée par les chélateurs de fer, cela ouvrirait donc la possibilité d'essayer la chélation conservative du fer dans les différents sous-types de NBIA (141). La question de la temporalité de l'introduction de ce traitement se pose, et il pourrait être intéressant d'essayer ce traitement dans les formes dites « en deux temps » de NBIA comme le BPAN, avec une introduction du traitement dans l'enfance, avant l'apparition du syndrome extrapyramidal et des dépôts de fer sur l'IRM.

Une autre piste de chélation conservatrice du fer est portée par les analogues de la sérotonine, des recherches sur les caractéristiques et les effets de ces analogues sont actuellement en cours et pour l'instant non publiées.

L'artésunate est également une molécule prometteuse pour diminuer le contenu intracellulaire en fer, et va prochainement être administré aux patients atteints d'ataxie de Friedreich dans le cadre d'un essai clinique coordonné par le Pr Munnich et l'Inserm. L'artésunate est un dérivé semi-synthétique de l'artémisine, et est déjà utilisé en pratique hospitalière dans le traitement des formes graves de paludisme. Il a été montré que cette molécule permettait de diminuer le contenu intracellulaire en fer, par une diminution de la quantité de récepteurs à la transferrine présents à la membrane cellulaire, en augmentant leur palmitoylation (179). Ces effets ont été confirmés sur des fibroblastes de patients atteints d'ataxie de Friedreich, en ajoutant de l'artésunate dans le milieu de culture cellulaire. Le niveau intracellulaire de fer des lymphocytes sanguins diminuait également après culture avec de l'artésunate (165). Le projet ARTEMIS

(NCT04921930) vise à évaluer l'effet de l'artésunate chez des patients atteints d'ataxie de Friedreich, il s'agit d'une étude interventionnelle de phase I-II. L'étude doit débuter dans le courant de l'été 2021, et a pour but d'étudier la tolérance, ainsi que de déterminer la dose efficace d'artésunate permettant de diminuer la quantité intracellulaire de fer et de récepteur de la transferrine présent à la membrane des lymphocytes sanguins. L'artésunate sera administré par voie orale, à des doses croissantes. Cette étude va inclure des hommes de 16 à 65 ans atteints d'ataxie de Friedreich. La date de fin d'étude prévue est le 30 juin 2022.

Il a également été montré sur des fibroblastes de patients atteints de NBIA que l'artésunate augmentait la palmitoylation du récepteur à la transferrine, et permettait diminuer le contenu de ferritine intracellulaire, reflet du contenu intracellulaire en fer total (126). Les résultats de l'étude ARTEMIS seront donc observés de façon régulière et précise, du fait de l'application potentielle aux NBIA, les mécanismes physiopathologiques visés entre ces deux maladies étant similaires.

5.6.2 Traitements spécifiques à un sous-type de NBIA

En fonction du sous-type de NBIA, des traitements spécifiques visant les voies métaboliques ou les enzymes atteintes ont été développés, avec pour but de fournir un substrat alternatif, ou l'enzyme déficiente par exemple. Les thérapies géniques sont encore à des stades de développement précliniques. Une équipe allemande a détaillé dans un article l'ensemble des projets de recherche en cours dans les NBIA (180).

Dans le cadre du PKAN, plusieurs molécules ont été développées. Le but est de restaurer une synthèse correcte du CoA. Une approche directe, par supplémentation en CoA, a montré son efficacité dans des études précliniques, mais n'a pas encore été testée chez l'homme. Un des freins majeurs est l'instabilité majeure du CoA et sa difficulté à passer les membranes cellulaires. Des substances intermédiaires ont également été testées chez l'homme, le fosmetpantoténate et la 4'-phosphopantéthéine. Le fosmetpantoténate n'a pas montré de bénéfice par rapport au placebo. Le 4'-phosphopantetheine a montré des résultats prometteurs dans des modèles animaux, et une étude clinique est actuellement en cours (NCT04182763). Une autre approche détaillée dans la partie revue de la littérature est l'utilisation de petites molécules que sont les pantazines (PZ-2891), qui vont aller activer PANK3. Les études chez la souris ont montré une efficacité sur la survie, la prise de poids, et l'activité locomotrice. Il n'y a pas encore d'étude clinique. Enfin, un projet de thérapie génique, via un AAV de type 9, est en cours dans l'équipe d'Hayflick. L'AAV, contenant l'ensemble du gène *PANK2*, a été construit et en cours d'administration chez des souris.

Dans le PLAN, des acides gras polyinsaturés auraient un effet bénéfique sur la peroxydation lipidique, sur des fibroblastes de patients et sur un modèle drosophile (181). Une étude clinique sur des enfants atteints de dystrophie neuroaxonale infantile est en cours aux États-Unis (NCT03570931). La desipramine a été étudiée en 2019 aux États-Unis, pour ses propriétés permettant de bloquer l'accumulation des céramides (NCT03726996). L'étude a malheureusement été interrompue prématurément du fait d'un déménagement de l'investigateur principal. Un projet de thérapie génique avec un AAV de type 9 est en cours chez des souris. Les premiers résultats ont montré une augmentation de la survie et une prévention de l'apparition des symptômes moteurs quand la thérapie est administrée au stade présymptomatique. Enfin, des travaux précliniques sont menés sur la recherche de protéines chaperonnes, qui viseraient à stabiliser la protéine PLA2G6 mutée. Le but actuel est d'identifier ces protéines, via un screening de molécules.

Pour le BPAN, deux grandes stratégies sont en cours d'étude : l'activation de l'autophagie et l'inhibition du stress du réticulum endoplasmique. La rapamycine, qui augmente l'autophagie, est actuellement à l'essai sur un modèle murin. De l'acide tauro-urso-déoxycholique est étudié sur des souris BPAN, par une équipe chinoise, pour son rôle d'inhibition du stress du réticulum endoplasmique (81).

Dans le cadre de l'acéroléoplasminémie, un essai d'administration intrapéritonéale de céruléoplasmine sur des souris a permis de montrer une efficacité sur la coordination motrice, et sur la restauration de l'activité ferroxidase de la céruléoplasmine (182). Il n'y a pas encore d'essais réalisés chez des patients.

5.6.3 Modification de l'homéostasie du fer

Enfin, il existe d'autres perspectives thérapeutiques, qui seront disponibles en pratique courante dans des délais probablement plus lointains que les chélateurs du fer et l'artésunate. On peut notamment citer les inhibiteurs des IRE. Pour rappel, l'homéostasie du fer est permise grâce aux protéines régulatrices du fer (IRP1 et IRP2), qui vont se lier aux éléments IRE, qui sont des structures en boucle dans les régions 3' ou 5'-UTR d'ARN messagers cibles (ARNm de la ferroportine, de transporteurs du fer, entre autres). Le fer peut se lier aux IRP (via des centres fer-soufre ou via la protéine FBXL5), ce qui entraîne la dissociation des IRP de l'IRE et la modification de la traduction des transcrits cibles. Récemment, un motif IRE a été trouvé dans la région 5'-UTR des transcrits de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) et de l' α -synucléine. Les niveaux d' α -synucléine, d'APP et de peptide β -amyloïde ainsi que l'agrégation des protéines peuvent donc être régulés à la baisse par les IRE, et sont régulés à la hausse en présence d'une accumulation de fer. Cette découverte a ouvert la recherche de médicaments

inhibiteurs des IRE. Un screening extensif de milliers de molécules a mis en évidence plusieurs molécules permettant de moduler spécifiquement la traduction de l'ARNm de l' α -synucléine et d'APP (183). Le but de cette étude était de trouver des traitements potentiels pour la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, et n'est donc pas ciblé sur l'accumulation intracérébrale de fer uniquement. Un autre frein est la nécessité de passage de la barrière hémato-encéphalique pour les molécules identifiées, et leur efficacité et bonne tolérance, qui n'est pas encore démontrée. Cependant, on peut imaginer que l'administration d'inhibiteurs des IRE ait un effet sur la régulation du métabolisme du fer à l'échelle cellulaire chez les patients atteints de NBIA, et permette une stabilisation clinique.

5.7 Conclusion

Les NBIA sont un groupe de maladies hétérogènes, de par leur présentation clinique, les localisations des dépôts de fer à l'imagerie, et les causes génétiques sous-jacentes. Il semble néanmoins se dégager des voies physiopathologiques d'accumulation de fer communes au sein de ce groupe de maladies. L'expertise de notre centre de référence dans la connaissance des NBIA à travers le recrutement d'une des plus grandes cohortes françaises nous permet d'affiner le spectre phénotypique et génotypique propre à chaque sous-type de NBIA. Cependant, le diagnostic moléculaire n'est pas établi pour une majorité de patients atteints de NBIA à l'issue de la réalisation du panel 9 gènes, et la question de la poursuite des explorations génétiques se pose. Des exomes ont pu être réalisés pour 4 patients analysés dans le laboratoire bordelais, et des séquençages à très haut débit (exome ou génome) vont être réalisés pour un plus grand nombre de patients prochainement, grâce aux plateformes Auragen et SeqOIA. L'analyse des exomes pour les 4 patients n'a pas permis de dégager de piste diagnostique, cependant les données de la littérature montrent qu'il existe de nouvelles causes monogéniques de NBIA, soutenant donc la nécessité de réaliser des séquençages à très haut débit chez les patients sans diagnostic à l'issue du panel. La diversité des tests fonctionnels développés permettront très certainement de caractériser précisément le rôle des futurs gènes identifiés comme responsables de NBIA. D'un point de vue thérapeutique, il existe de nombreuses pistes, soit ciblées sur un sous-type de NBIA, soit sur l'ensemble des NBIA. A l'heure actuelle, il n'existe pas de traitement curatif validé, mais nombre de ces pistes sont encore à des stades de recherche précliniques, ou à des stades cliniques précoces. La difficulté, dans ce groupe de maladies neurodégénératives rares, sera d'administrer les traitements au moment opportun, et chez un nombre de patients suffisant afin de pouvoir prouver leur efficacité. L'effort de recherche est international et coordonné, notamment via le réseau TIRCON (*treat iron-related childhood-onset neurodegeneration*), avec une mise en commun des connaissances annuelle, permettant de nourrir l'espoir d'un traitement dans un futur proche. Le défi des prochaines années est donc double : à la fois diagnostique, afin de pouvoir fournir un diagnostic et pronostic précis à chaque patient, et thérapeutique précoce, grâce aux nouveaux traitements en cours de développement.

6 ANNEXES

6.1 Liste des gènes par filtre GTEX

<i>MTATP6P1</i>	<i>CBLN3</i>	<i>GD11</i>	<i>ALDOA</i>	<i>FTH1</i>
<i>CKB</i>	<i>APOE</i>	<i>RPL5</i>	<i>ENO1</i>	<i>PLP1</i>
<i>SNAP25</i>	<i>CALM3</i>	<i>RPL21</i>	<i>LENG8</i>	<i>FBXL16</i>
<i>LINC00599</i>	<i>ATP5B</i>	<i>ACAP3</i>	<i>VAMP2</i>	<i>RPS27</i>
<i>ACTB</i>	<i>EIF4A2</i>	<i>ATP6V0C</i>	<i>PKM</i>	<i>CTXN1</i>
<i>RPL13A</i>	<i>CBLN1</i>	<i>ACTG1</i>	<i>RPL19</i>	<i>CST3</i>
<i>GAPDH</i>	<i>STMN2</i>	<i>NDRG4</i>	<i>HNRNPA2B1</i>	<i>ITM2C</i>
<i>ENO2</i>	<i>CPE</i>	<i>PDIA2</i>	<i>TSPYL2</i>	<i>ATPIA2</i>
<i>CLU</i>	<i>TMEM59L</i>	<i>GFAP</i>	<i>PKD1</i>	<i>NCDN</i>
<i>PEBP1</i>	<i>EEF1A1</i>	<i>HSP90AA1</i>	<i>SI00B</i>	<i>RPLP1</i>
<i>FTL</i>	<i>RPS25</i>	<i>ATP1B2</i>	<i>COX8A</i>	<i>GNG7</i>
<i>RPS11</i>	<i>PTMS</i>	<i>RPS16</i>	<i>ATN1</i>	<i>COX6A1</i>
<i>CALM2</i>	<i>RPL17</i>	<i>MT3</i>	<i>TLE2</i>	<i>SYNDIG1L</i>
<i>ALDOC</i>	<i>PHYHIP</i>	<i>PRDX5</i>	<i>LDHB</i>	<i>SLC1A2</i>
<i>EEF2</i>	<i>ATP6V1G2</i>	<i>CADM3</i>	<i>PAGR1</i>	<i>MBP</i>
<i>CALM1</i>	<i>SNCB</i>	<i>NPDC1</i>	<i>PEA15</i>	<i>TSPAN7</i>
<i>EEF1A2</i>	<i>HSPA8</i>	<i>TMEM178A</i>	<i>MTATP6P1</i>	<i>NDUFS5</i>
<i>TUBB4A</i>	<i>PVALB</i>	<i>CPLX2</i>	<i>NRGN</i>	<i>YWHAE</i>
<i>RPL9</i>	<i>EEF1G</i>	<i>SLC17A7</i>	<i>PPP1R1B</i>	<i>UCHL1</i>
<i>RPS18</i>	<i>RPL10</i>	<i>RPS3A</i>	<i>TMSB10</i>	<i>PCSK1N</i>
<i>RPL3</i>	<i>NDRG2</i>	<i>SLC22A17</i>	<i>SPARCL1</i>	<i>RPL35</i>
<i>PSAP</i>	<i>RPL24</i>	<i>RPS13</i>	<i>HPCA</i>	<i>PLEKHB1</i>
<i>MTND2P28</i>	<i>PRDX2</i>	<i>TUBA1A</i>	<i>PCP4</i>	<i>FAM107A</i>
<i>PTGDS</i>	<i>OAZ1</i>	<i>GABRD</i>	<i>TMSB4X</i>	<i>BEX3</i>
<i>HSP90AB1</i>	<i>PRRT2</i>	<i>DDX17</i>	<i>RPS2</i>	<i>RPLP2</i>
<i>AES</i>	<i>CA11</i>	<i>CHGB</i>	<i>SPARC</i>	<i>RPSA</i>
<i>SNRNP70</i>	<i>RPL8</i>	<i>RPL4</i>	<i>FKBP8</i>	<i>BSG</i>
<i>RPS12</i>	<i>RPS27A</i>	<i>SEPT4</i>	<i>RPL34</i>	<i>RPS6</i>
<i>BEX1</i>	<i>BCAS1</i>	<i>MTURN</i>	<i>APOD</i>	<i>B2M</i>
<i>KIF5A</i>	<i>MRFAP1</i>	<i>NNAT</i>	<i>PAQR6</i>	<i>HBB</i>
<i>GLUL</i>	<i>RHOB</i>	<i>PFDN5</i>	<i>CRYAB</i>	<i>MARCKSL1</i>
<i>SELENOW</i>	<i>RPS7</i>	<i>FAM127A</i>	<i>TP53INP2</i>	<i>MOBP</i>
<i>HTRA1</i>	<i>SERINC1</i>	<i>RPL7A</i>	<i>SPP1</i>	<i>QDPR</i>
<i>DKK3</i>	<i>HLA-B</i>	<i>APP</i>	<i>MT2A</i>	<i>PRDX1</i>
<i>SCD</i>	<i>RPS28</i>	<i>NDUFA1</i>	<i>TF</i>	<i>CSRP1</i>
<i>RPL38</i>				

Tableau 25 : ensemble des gènes les plus exprimés dans les putamen, la substance noire, les noyaux caudés, le nucleus accumbens et le cervelet, grâce à la base de données GTEX

6.2 Table des figures

Figure 1 : feuille de renseignements cliniques et paracliniques réalisée par le laboratoire de biologie moléculaire bordelais	12
Figure 2 : étapes permettant d'obtenir les variants d'intérêt, en partant du séquençage d'exome en trio.....	15
Figure 3 : pipe-line bioinformatique de filtration des variants à partir du fichier id.vcf.....	16
Figure 4 : Différentes étapes depuis l'arrivée du prélèvement du patient jusqu'à la production du résultat génétique.....	18
Figure 5 : photographie du premier patient atteint de NBIA décrit dans la littérature.....	19
Figure 6 : coupe du globus pallidus du patient WH colorée à l'hématoxyline. Les ronds noirs correspondent au fer.	20
Figure 7 : représentation schématique (coupe coronale et axiale) des différents noyaux gris centraux	22
Figure 8 : Représentation schématique du rôle des gènes impliqués dans les NBIA à l'échelle d'une cellule	23
Figure 9 : résumé des étapes diagnostiques et des critères pour bénéficier d'une analyse génétique par séquençage à très haut débit	25
Figure 10 : pourcentage des types de NBIA dans la population nord-américaine	35
Figure 11 : Coupes d'IRM cérébrales d'un patient de 43 ans atteint de PKAN. (a) : coupe coronale en FLAIR, (b) : coupe axiale en FLAIR, (c) : coupe axiale en T1, (d) : coupe axiale en T2. Hyperintensité centrale (flèches blanches) des globi pallidi, entourée d'une couronne hypointense sur les séquences pondérées FLAIR et T2, réalisant le classique œil de tigre. En T1 (c), hypointensité centrale entourée d'une hyperintensité.	38
Figure 12 : voie de synthèse du coenzyme A	39
Figure 13 : La coupe axiale en A est pondérée T2 et la flèche désigne l'hyposignal du globus pallidus. La coupe sagittale pondérée T1 en B montre l'atrophie cérébelleuse.	44
Figure 14 : coupe axiale d'IRM pondérée en T2*, la tête de flèche indique la lamina interne médullaire et la flèche l'hypointensité du noyau caudé	48
Figure 15 : Coupes axiales d'IRM au niveau cérébelleux (a) pondérée T1, de la substance noire en T1 (b), T2* (c) et ADC (d). Coupe coronale T1 (e) et coupes axiales T1(f), T2* (g) et ADC (h) au niveau du noyau lenticulaire. Les coupes à fort grossissement en T1 montrent l'élargissement de la substance noire et du noyau lenticulaire. La flèche de la figure (a) montre l'atrophie cérébelleuse. La substance noire et le globus pallidus sont hypointenses sur les coupes T2*, avec une hypointensité centrale entourée d'une couronne hyperintense en T1, et une	

augmentation du coefficient ADC, probablement à cause de la gliose (flèches blanches). On voit nettement la lamina interne médullaire sur la figure (g), avec la flèche.	48
Figure 16 : Coupes axiales d'IRM pondérées T2 (A et E) montrant des globi pallidi hypointenses, ainsi que sur les coupes FLAIR (B) et T2* (F). La substance noire apparaît également hypointense sur les coupes pondérées T2 (C et G), FLAIR (D) et T2* (H).	52
Figure 17 : coupes axiales d'IRM pondérées SWI d'une patiente atteinte de BPAN comparées à celle d'un enfant sain, les flèches indiquent les liserés de fer putaminaux	53
Figure 18 : Coupes IRM d'un patient de 29 ans de sexe masculin, atteint du syndrome FAHN. (a) est une coupe sagittale pondérée T1, l'astérisque montre l'atrophie cérébelleuse, et la flèche le corps calleux fin. Les coupes (b) et (c) sont des coupes axiales pondérées SWI montrant des dépôts de fer dans la substance noire (flèches en (b)), et sur les globi pallidi (flèches en (c)). La coupe (d) est une coupe axiale pondérée T2 montrant avec les flèches des hypersignaux dans la substance blanche.	57
Figure 19 : IRM d'une patiente à l'âge de 9 ans (e, f) et à l'âge de 19 ans (g, h). Les coupes axiales T2 en (e) et (f) montrent des hypointensités pallidales. Les noyaux caudés et les putamen sont gonflés et hyperintenses. On note également une hyperintensité dans les thalami médians et postérieurs (flèches blanches). La coupe axiale en (g) montre l'hypointensité pallidale bilatérale. La coupe coronale FLAIR en (h) montre un hyposignal bipallidal et dans la portion médiane de la substance noire (têtes de flèches).	59
Figure 20 : Coupe sagittale T1 en (e) montrant l'atrophie cérébelleuse et du mésencéphale (flèches). Les coupes axiales T2 de (f) à (h) montrent des aires d'hypointensités correspondant à dépôts de fer dans la substance noire (f), les globi pallidi, les noyaux caudés, les thalami et les putamen (g), avec une hyperintensité centrale dans le putamen montrant de la cavitation (flèche), et des hyperintensités de la substance blanche en (h), montrées par la tête de flèche.	62
Figure 21: coupe axiale d'IRM montrant une image en œil de tigre au niveau des globi pallidi	62
Figure 22 : Les coupes axiales T2 montrent de larges plages d'hyposignaux du fait des dépôts de fer, dans les noyaux dentelés (a), l'hippocampe avec la tête de flèche en (b), le noyau rouge avec l'astérisque en (b), la substance noire avec la flèche en (b), le noyau caudé (flèche), le putamen (double flèche) et le cortex (tête de flèche) en (c), et le cortex (tête de flèche) et le noyau caudé (flèche) en (d).	63
Figure 23 : Patient présentant un syndrome de Woodhouse Sakati. Les coupes axiales T2 (e) et T2* (f-h) montrent des espaces péri-vasculaires élargis dans la zone de la substance noire	

(flèche en (e)) et des hyposignaux de la substance noire (flèche en (f)) et dans les globi pallidi (flèches en (g) et (h)).	65
Figure 24 : IRM d'un patient atteint du syndrome de Kufor-Rakeb. Coupe sagittale pondérée T1 sur l'image de gauche, avec une atrophie sus et sous tentorielle. Coupe axiale pondérée T2* sur la droite, la flèche indique les dépôts de fer dans les putamen et les noyaux caudés.	66
Figure 25 : Schéma de l'absorption intestinale du fer, à l'échelle d'un entérocyte	72
Figure 26 : représentation schématique des voies d'entrée et de sortie du fer dans une cellule	73
Figure 27 : structure d'un IRE, comprenant le motif CAGUGN	75
Figure 28 : Rôle des interactions IRE-IRP sur la traduction des ARNm en fonction de la quantité de fer intracellulaire. (A) : situation de carence en fer. (B) : situation d'excès de fer.	76
Figure 29 : pourcentage de patients en fonction du gène dans la série bordelaise	80
Figure 30 : Coloration à l'hématoxyline et à l'éosine de la substance noire. La flèche longue indique un corps de Lewy et les flèches courtes des axones sphéroïdes.	82
Figure 31 : coupes axiales d'IRM à l'âge de 35 ans (A, B, C) et de 42 ans (D, E, F). Séquences pondérées FLAIR en (A), (B), (D) et T2* (C), (E), (F).	84
Figure 32 : coupes axiales T2 (A et B) et T1 (C), montrant les dépôts dans les globi pallidi (A), la substance noire (B) et l'atrophie cérébelleuse (C)	86
Figure 33 : coupes axiales pondérées écho de gradient, montrant des dépôts dans les globi pallidi (A) et la substance noire (B)	87
Figure 34 : répartition des âges des patients lors de la réalisation du panel NBIA	90
Figure 35 : Symptômes neurologiques retrouvés chez les patients de la cohorte, exprimés en pourcentage par rapport au nombre total de patients dans la cohorte (n=132)	92
Figure 36 : localisation cérébrale des dépôts de fer	94
Figure 37 : coupes axiales (A, B, C, D) et coronales (E, F) d'IRM cérébrale de la patiente n°1. La coupe A pondérée T2 montre des dépôts de fer dans les globi pallidi, la coupe B dans la substance noire. La coupe C pondérée en diffusion montre les dépôts pallidaux. La coupe D pondérée FLAIR montre l'élargissement des cavités ventriculaires ainsi que l'hypersignal insulaire gauche. Les coupes E et F pondérées FLAIR montrent l'hypersignal hippocampique droit.	101
Figure 38 : représentation du variant dans le gène KMT2B grâce au logiciel Alamut, les fichiers BAM de la patiente sont alignés dans le bas de l'image	106
Figure 39 : représentation du variant dans le gène PRRT2 grâce au logiciel alamut, les fichiers BAM de la patiente sont alignés dans le bas de l'image	109

Figure 40 : électrophorégramme de la séquence PRRT2. Les données de la patiente sont encadrées, la double flèche noire indique la position où le variant avait été identifié sur le séquençage d'exome. La séquence de référence n'est pas encadrée, et les données sont identiques à celles de la patiente.	109
Figure 41 : coupes axiales d'IRM cérébrale, pondérées SWI en (A) et (C), et en diffusion en (B).....	110
Figure 42 : coupe axiale de scanner (A), de TEP (B), et superposition (C).....	111
Figure 43 : Coupes axiales de l'IRM du patient n°3, mettant en évidence des hypointensités des globi pallidi sur la coupe de gauche (séquence SWI) et de la substance noire sur la coupe de droite (séquence injectée).	117
Figure 44 : représentation du variant identifié dans le gène KMT2B, non identifié sur les fichiers BAM.....	120
Figure 45 : coupes axiales de l'IRM du patient n°4 à l'âge de 18 ans, de gauche à droite : séquence T1, SWI et 3D FLAIR	123
Figure 46 : représentation du variant n°1 identifié dans le gène CP par le séquençage d'exome, non retrouvé sur les fichiers BAM (visualisation avec le logiciel Alamut)	127
Figure 47 : représentation du variant n°2 identifié dans le gène CP par le séquençage d'exome, non retrouvé sur les fichiers BAM (visualisation avec le logiciel Alamut)	127
Figure 48 : représentation du variant identifié dans le gène PANK2 par le séquençage d'exome, non retrouvé sur les fichiers BAM (visualisation avec le logiciel Alamut)	127
Figure 49 : pourcentage de rentabilité du panel (en ordonnées) en fonction de l'âge des premiers symptômes (en abscisses)	130
Figure 50 : Rendement diagnostique du panel (en ordonnées) en fonction de l'année de réalisation (en abscisses).....	131

6.3 Table des tableaux

Tableau 1 : données cliniques et paracliniques des patients de la série bordelaise avec un diagnostic moléculaire de NBIA	89
Tableau 2 : anomalies IRM retrouvées chez les différents patients	93
Tableau 3 : analyses génétiques réalisées avant le panel NBIA.....	95
Tableau 4 : variants identifiés par le panel 9 gènes, ou le séquençage de FTL / PANK2, non retenus en raison de leur zygocité ou de leurs caractéristiques. Le sigle Ø signifie qu'il n'y a pas de deuxième variant d'intérêt identifié chez le patient	100
Tableau 5 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation.....	103
Tableau 6 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation	104
Tableau 7 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation	105
Tableau 8 : variants identifiés avec le filtre endeavour et leur interprétation	107
Tableau 9 : variants identifiés par le filtre GTEX et leur interprétation	108
Tableau 10 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation.....	113
Tableau 11 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation	113
Tableau 12 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation	114
Tableau 13 : variants identifiés par le filtre endeavour et leur interprétation	115
Tableau 14 : variants identifiés par le filtre GTEX et leur interprétation	116
Tableau 15 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation.....	118
Tableau 16 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation	119
Tableau 17 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation	120
Tableau 18 : variants identifiés avec le filtre endeavour et leur interprétation	121
Tableau 19 : variants identifiés par le filtre GTEX et leur interprétation	121
Tableau 20 : variants identifiés par l'analyse « exome clinique » et leur interprétation.....	125
Tableau 21 : variants identifiés par l'analyse « exome recherche » et leur interprétation	125
Tableau 22 : variants identifiés dans les gènes de NBIA et leur interprétation	126
Tableau 23 : variants identifiés avec le filtre GTEX et leur interprétation	128
Tableau 24 : variants identifiés dans les gènes avec le filtre GTEX et leur interprétation	129
Tableau 25 : ensemble des gènes les plus exprimés dans les putamen, la substance noire, les noyaux caudés, le nucleus accumbens et le cervelet, grâce à la base de données GTEX	155

7 REFERENCES

1. Hogarth P. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation: Diagnosis and Management. *J Mov Disord.* janv 2015;8(1):1-13.
2. Gregory A, Hayflick S. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation Disorders Overview. :16.
3. Levi S, Tiranti V. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation Disorders: Valuable Models Aimed at Understanding the Pathogenesis of Iron Deposition. *Pharm Basel Switz.* 9 févr 2019;12(1):E27.
4. Schneider SA. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation. *Curr Neurol Neurosci Rep.* janv 2016;16(1):9.
5. Tranchevent L-C, Ardeshirdavani A, ElShal S, Alcaide D, Aerts J, Auboeuf D, et al. Candidate gene prioritization with Endeavour. *Nucleic Acids Res.* 8 juill 2016;44(W1):W117-21.
6. GTEx Consortium. The GTEx Consortium atlas of genetic regulatory effects across human tissues. *Science.* 11 sept 2020;369(6509):1318-30.
7. Compston A. Progressive atrophy of the globus pallidus (primary atrophy of the pallidal system). A system disease of the paralysis agitans type, characterized by atrophy of the motor cells of the corpus striatum. A contribution to the function of the corpus striatum. By J. Ramsay Hunt MD, New York. *Brain* 1917; 40: 58–148. *Brain.* juin 2017;140(6):1808-13.
8. Shevell M. Hallervorden and History. *N Engl J Med.* 2 janv 2003;348(1):3-4.
9. Harper PS. Naming of syndromes and unethical activities: the case of Hallervorden and Spatz. *The Lancet.* 2 nov 1996;348(9036):1224-5.
10. Shevell M. Racial hygiene, active euthanasia, and Julius Hallervorden. *Neurology.* nov 1992;42(11):2214-9.
11. Lehericy S, Roze E, Goizet C, Mochel F. MRI of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Curr Opin Neurol.* août 2020;33(4):462-73.
12. Physiologie des systèmes intégrés, les principes et fonctions - Les noyaux gris centraux [Internet]. [cité 3 août 2021]. Disponible sur: https://ressources.unisciel.fr/physiologie/co/grain5_1d.html
13. Sulzer D, Cassidy C, Horga G, Kang UJ, Fahn S, Casella L, et al. Neuromelanin detection by magnetic resonance imaging (MRI) and its promise as a biomarker for Parkinson's disease. *NPJ Park Dis.* 2018;4:11.
14. Arber CE, Li A, Houlden H, Wray S. Review: Insights into molecular mechanisms of

disease in neurodegeneration with brain iron accumulation: unifying theories. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2016;42(3):220-41.

15. Schneider SA. Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation. *Curr Neurol Neurosci Rep.* janv 2016;16(1):9.

16. Zhou B, Westaway SK, Levinson B, Johnson MA, Gitschier J, Hayflick SJ. A novel pantothenate kinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nat Genet.* août 2001;28(4):345-9.

17. Zeidman LA, Pandey DK. Declining use of the Hallervorden-Spatz disease eponym in the last two decades. *J Child Neurol.* oct 2012;27(10):1310-5.

18. Hayflick SJ, Westaway SK, Levinson B, Zhou B, Johnson MA, Ching KHL, et al. Genetic, clinical, and radiographic delineation of Hallervorden-Spatz syndrome. *N Engl J Med.* 2 janv 2003;348(1):33-40.

19. Egan RA, Weleber RG, Hogarth P, Gregory A, Coryell J, Westaway SK, et al. Neuro-Ophthalmologic and Electroretinographic Findings in Pantothenate Kinase-Associated Neurodegeneration (formerly Hallervorden-Spatz Syndrome). *Am J Ophthalmol.* 1 août 2005;140(2):267.e1-267.e9.

20. Freeman K, Gregory A, Turner A, Blasco P, Hogarth P, Hayflick S. Intellectual and adaptive behaviour functioning in pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *J Intellect Disabil Res JIDR.* juin 2007;51(Pt 6):417-26.

21. Lee J-H, Gregory A, Hogarth P, Rogers C, Hayflick SJ. Looking Deep into the Eye-of-the-Tiger in Pantothenate Kinase-Associated Neurodegeneration. *AJNR Am J Neuroradiol.* mars 2018;39(3):583-8.

22. Chiapparini L, Savoiaro M, D'Arrigo S, Reale C, Zorzi G, Zibordi F, et al. The "Eye-of-the-Tiger" Sign may be Absent in the Early Stages of Classic Pantothenate Kinase Associated Neurodegeneration. *Neuropediatrics.* août 2011;42(4):159-62.

23. Chang C-L, Lin C-M. Eye-of-the-Tiger sign is not Pathognomonic of Pantothenate Kinase-Associated Neurodegeneration in Adult Cases. *Brain Behav.* sept 2011;1(1):55-6.

24. Strecker K, Hesse S, Wegner F, Sabri O, Schwarz J, Schneider J-P. Eye of the Tiger sign in multiple system atrophy. *Eur J Neurol.* 2007;14(11):e1-2.

25. Wu YW, Hess CP, Singhal NS, Groden C, Toro C. Idiopathic Basal Ganglia Calcifications: An Atypical Presentation of PKAN. *Pediatr Neurol.* 1 nov 2013;49(5):351-4.

26. Gout I. Coenzyme A, protein CoAlation and redox regulation in mammalian cells. *Biochem Soc Trans.* 19 juin 2018;46(3):721-8.

27. Brunetti D, Dusi S, Morbin M, Uggetti A, Moda F, D'Amato I, et al. Pantothenate

- kinase-associated neurodegeneration: altered mitochondria membrane potential and defective respiration in Pank2 knock-out mouse model. *Hum Mol Genet.* 15 déc 2012;21(24):5294-305.
28. Di Meo I, Tiranti V. Classification and molecular pathogenesis of NBIA syndromes. *Eur J Paediatr Neurol.* 1 mars 2018;22(2):272-84.
 29. Srinivasan B, Sibon OCM. Coenzyme A, more than 'just' a metabolic cofactor. *Biochem Soc Trans.* 1 août 2014;42(4):1075-9.
 30. Carithers LJ, Ardlie K, Barcus M, Branton PA, Britton A, Buia SA, et al. A Novel Approach to High-Quality Postmortem Tissue Procurement: The GTEx Project. *Biopreservation Biobanking.* oct 2015;13(5):311-9.
 31. Perry TL, Norman MG, Yong VW, Whiting S, Crichton JU, Hansen S, et al. Hallervorden-Spatz disease: cysteine accumulation and cysteine dioxygenase deficiency in the globus pallidus. *Ann Neurol.* oct 1985;18(4):482-9.
 32. Poli M, Derosas M, Luscieti S, Cavadini P, Campanella A, Verardi R, et al. Pantothenate kinase-2 (Pank2) silencing causes cell growth reduction, cell-specific ferroportin upregulation and iron deregulation. *Neurobiol Dis.* 1 août 2010;39(2):204-10.
 33. Santambrogio P, Dusi S, Guaraldo M, Rotundo LI, Broccoli V, Garavaglia B, et al. Mitochondrial iron and energetic dysfunction distinguish fibroblasts and induced neurons from pantothenate kinase-associated neurodegeneration patients. *Neurobiol Dis.* sept 2015;81:144-53.
 34. Leoni V, Strittmatter L, Zorzi G, Zibordi F, Dusi S, Garavaglia B, et al. Metabolic consequences of mitochondrial coenzyme A deficiency in patients with PANK2 mutations. *Mol Genet Metab.* mars 2012;105(3):463-71.
 35. Schiessl-Weyer J, Roa P, Laccone F, Kluge B, Tichy A, De Almeida Ribeiro E, et al. Acanthocytosis and the c.680 A>G Mutation in the PANK2 Gene: A Study Enrolling a Cohort of PKAN Patients from the Dominican Republic. *PloS One.* 2015;10(4):e0125861.
 36. Aoun M, Corsetto PA, Nogue G, Montorfano G, Ciusani E, Crouzier D, et al. Changes in Red Blood Cell membrane lipid composition: A new perspective into the pathogenesis of PKAN. *Mol Genet Metab.* 1 juin 2017;121(2):180-9.
 37. Kruer MC, Hiken M, Gregory A, Malandrini A, Clark D, Hogarth P, et al. Novel histopathologic findings in molecularly-confirmed pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *Brain.* avr 2011;134(4):947-58.
 38. Allen NM, Lin J-P, Lynch T, King MD. Status dystonicus: a practice guide. *Dev Med Child Neurol.* 2014;56(2):105-12.
 39. Klopstock T, Tricta F, Neumayr L, Karin I, Zorzi G, Fradette C, et al. Safety and efficacy

of deferiprone for pantothenate kinase-associated neurodegeneration: a randomised, double-blind, controlled trial and an open-label extension study. *Lancet Neurol.* 1 juill 2019;18(7):631-42.

40. Kwiatkowski A, Ryckewaert G, Jissendi Tchofo P, Moreau C, Vuillaume I, Chinnery PF, et al. Long-term improvement under deferiprone in a case of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Parkinsonism Relat Disord.* janv 2012;18(1):110-2.

41. Klopstock T, Videnovic A, Bischoff AT, Bonnet C, Cif L, Comella C, et al. Fosmetpantotate Randomized Controlled Trial in Pantothenate Kinase-Associated Neurodegeneration. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc.* juin 2021;36(6):1342-52.

42. Kalman B, Lautenschlaeger R, Kohlmayer F, Büchner B, Kmiec T, Klopstock T, et al. An international registry for neurodegeneration with brain iron accumulation. *Orphanet J Rare Dis.* 17 sept 2012;7:66.

43. Jeong SY, Hogarth P, Placzek A, Gregory AM, Fox R, Zhen D, et al. 4'-Phosphopantetheine corrects CoA, iron, and dopamine metabolic defects in mammalian models of PKAN. *EMBO Mol Med.* déc 2019;11(12):e10489.

44. Sharma LK, Subramanian C, Yun M-K, Frank MW, White SW, Rock CO, et al. A therapeutic approach to pantothenate kinase associated neurodegeneration. *Nat Commun.* 23 oct 2018;9(1):4399.

45. Nardocci N, Zorzi G, Farina L, Binelli S, Scaioli W, Ciano C, et al. Infantile neuroaxonal dystrophy: clinical spectrum and diagnostic criteria. *Neurology.* 22 avr 1999;52(7):1472-8.

46. Khateeb S, Flusser H, Ofir R, Shelef I, Narkis G, Vardi G, et al. PLA2G6 Mutation Underlies Infantile Neuroaxonal Dystrophy. *Am J Hum Genet.* nov 2006;79(5):942-8.

47. Morgan NV, Westaway SK, Morton JEV, Gregory A, Gissen P, Sonnek S, et al. PLA2G6, encoding a phospholipase A2, is mutated in neurodegenerative disorders with high brain iron. *Nat Genet.* 1 juill 2006;38(7):752-4.

48. Paisan-Ruiz C, Bhatia KP, Li A, Hernandez D, Davis M, Wood NW, et al. Characterization of PLA2G6 as a locus for dystonia-parkinsonism. *Ann Neurol.* 2009;65(1):19-23.

49. Gregory A, Westaway SK, Holm IE, Kotzbauer PT, Hogarth P, Sonnek S, et al. Neurodegeneration associated with genetic defects in phospholipase A2. *Neurology.* 28 oct 2008;71(18):1402-9.

50. Yang HC, Mosior M, Ni B, Dennis EA. Regional distribution, ontogeny, purification, and characterization of the Ca²⁺-independent phospholipase A2 from rat brain. *J Neurochem.* sept 1999;73(3):1278-87.

51. Balsinde J, Balboa MA. Cellular regulation and proposed biological functions of group VIA calcium-independent phospholipase A2 in activated cells. *Cell Signal*. 1 sept 2005;17(9):1052-62.
52. Balboa MA, Pérez R, Balsinde J. Calcium-independent phospholipase A2 mediates proliferation of human promonocytic U937 cells. *FEBS J*. 2008;275(8):1915-24.
53. Engel LA, Jing Z, O'Brien DE, Sun M, Kotzbauer PT. Catalytic function of PLA2G6 is impaired by mutations associated with infantile neuroaxonal dystrophy but not dystonia-parkinsonism. *PloS One*. 23 sept 2010;5(9):e12897.
54. McNeill A. PLA2G6 mutations and other rare causes of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Curr Drug Targets*. août 2012;13(9):1204-6.
55. Altuame FD, Foskett G, Atwal PS, Endemann S, Midei M, Milner P, et al. The natural history of infantile neuroaxonal dystrophy. *Orphanet J Rare Dis*. 1 mai 2020;15(1):109.
56. Schneider SA, Dusek P, Hardy J, Westenberger A, Jankovic J, Bhatia KP. Genetics and Pathophysiology of Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation (NBIA). *Curr Neuropharmacol*. janv 2013;11(1):59-79.
57. Paisán-Ruiz C, Li A, Schneider SA, Holton JL, Johnson R, Kidd D, et al. Widespread Lewy body and tau accumulation in childhood and adult onset dystonia-parkinsonism cases with PLA2G6 mutations. *Neurobiol Aging*. avr 2012;33(4):814-23.
58. Beck G, Sugiura Y, Shinzawa K, Kato S, Setou M, Tsujimoto Y, et al. Neuroaxonal Dystrophy in Calcium-Independent Phospholipase A2 β Deficiency Results from Insufficient Remodeling and Degeneration of Mitochondrial and Presynaptic Membranes. *J Neurosci*. 3 août 2011;31(31):11411-20.
59. Strokin M, Reiser G. Mitochondria from a mouse model of the human infantile neuroaxonal dystrophy (INAD) with genetic defects in VIA iPLA2 have disturbed Ca²⁺ regulation with reduction in Ca²⁺ capacity. *Neurochem Int*. 1 oct 2016;99:187-93.
60. Kinghorn KJ, Castillo-Quan JI, Bartolome F, Angelova PR, Li L, Pope S, et al. Loss of PLA2G6 leads to elevated mitochondrial lipid peroxidation and mitochondrial dysfunction. *Brain*. juill 2015;138(7):1801-16.
61. Hogarth P, Gregory A, Krueger MC, Sanford L, Wagoner W, Natowicz MR, et al. New NBIA subtype. *Neurology*. 15 janv 2013;80(3):268-75.
62. Schottmann G, Stenzel W, Lützkendorf S, Schuelke M, Knierim E. A novel frameshift mutation of C19ORF12 causes NBIA4 with cerebellar atrophy and manifests with severe peripheral motor axonal neuropathy. *Clin Genet*. 2014;85(3):290-2.
63. Dusek P, Mekle R, Skowronska M, Acosta-Cabronero J, Huelnhagen T, Robinson SD,

et al. Brain Iron and Metabolic Abnormalities in C19orf12 Mutation Carriers: A 7.0 Tesla MRI Study in Mitochondrial Membrane Protein–Associated Neurodegeneration. *Mov Disord.* 2020;35(1):142-50.

64. Hartig MB, Iuso A, Haack T, Kmiec T, Jurkiewicz E, Heim K, et al. Absence of an Orphan Mitochondrial Protein, C19orf12, Causes a Distinct Clinical Subtype of Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation. *Am J Hum Genet.* 7 oct 2011;89(4):543-50.

65. Landouré G, Zhu P-P, Lourenço CM, Johnson JO, Toro C, Bricceno KV, et al. Hereditary spastic paraplegia type 43 (SPG43) is caused by mutation in C19orf12. *Hum Mutat.* oct 2013;34(10):1357-60.

66. Venco P, Bonora M, Giorgi C, Papaleo E, Iuso A, Prokisch H, et al. Mutations of C19orf12, coding for a transmembrane glycine zipper containing mitochondrial protein, cause mis-localization of the protein, inability to respond to oxidative stress and increased mitochondrial Ca²⁺. *Front Genet.* 2015;6:185.

67. Gregory A, Lotia M, Jeong SY, Fox R, Zhen D, Sanford L, et al. Autosomal dominant mitochondrial membrane protein-associated neurodegeneration (MPAN). *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7(7):e00736.

68. Haack TB, Hogarth P, Kruer MC, Gregory A, Wieland T, Schwarzmayer T, et al. Exome Sequencing Reveals De Novo WDR45 Mutations Causing a Phenotypically Distinct, X-Linked Dominant Form of NBIA. *Am J Hum Genet.* 7 déc 2012;91(6):1144-9.

69. Saitsu H, Nishimura T, Muramatsu K, Kodera H, Kumada S, Sugai K, et al. De novo mutations in the autophagy gene WDR45 cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood. *Nat Genet.* avr 2013;45(4):445-9.

70. Harik S, Dandu V, Angtuaco E, Hayflick S. Phenotypic Differences in Identical Twins with Mutated WDR45, a Newly Discovered X-Chromosome Gene Mutation Which Causes Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation (NBIA) (P03.052). *Neurology.* 12 févr 2013;80(7 Supplement):P03.052.

71. Liu W-T, Chen Q, Gao Z-J, Ji X-N, Xu K-M, Cao Y-Y. A Novel WDR45 Mutation in a 9-Month-Old Male Infant with Epileptic Spasms. *Chin Med J (Engl).* 20 déc 2018;131(24):2991-2.

72. Abidi A, Mignon-Ravix C, Cacciagli P, Girard N, Milh M, Villard L. Early-onset epileptic encephalopathy as the initial clinical presentation of WDR45 deletion in a male patient. *Eur J Hum Genet.* avr 2016;24(4):615-8.

73. Hayflick SJ, Kruer MC, Gregory A, Haack TB, Kurian MA, Houlden HH, et al. Beta-propeller protein-associated neurodegeneration: a new X-linked dominant disorder with brain

iron accumulation. *Brain*. juin 2013;136(6):1708-17.

74. van der Weijden MCM, van Laar PJ, Lambrechts RA, Verbeek DS, Tijssen MAJ. Cortical pencil lining on SWI MRI in NBIA and healthy aging. *BMC Neurol*. 14 oct 2019;19.

75. Zarate YA, Jones JR, Jones MA, Millan F, Juusola J, Vertino-Bell A, et al. Lessons from a pair of siblings with BPAN. *Eur J Hum Genet*. juill 2016;24(7):1080-3.

76. Adang LA, Pizzino A, Malhotra A, Dubbs H, Williams C, Sherbini O, et al. Phenotypic and Imaging Spectrum Associated With WDR45. *Pediatr Neurol*. août 2020;109:56-62.

77. Proikas-Cezanne T, Waddell S, Gaugel A, Frickey T, Lupas A, Nordheim A. WIPI-1alpha (WIPI49), a member of the novel 7-bladed WIPI protein family, is aberrantly expressed in human cancer and is linked to starvation-induced autophagy. *Oncogene*. 16 déc 2004;23(58):9314-25.

78. Zhao YG, Sun L, Miao G, Ji C, Zhao H, Sun H, et al. The autophagy gene Wdr45/Wipi4 regulates learning and memory function and axonal homeostasis. *Autophagy*. 22 mai 2015;11(6):881-90.

79. Ingrassia R, Memo M, Garavaglia B. Ferrous Iron Up-regulation in Fibroblasts of Patients with Beta Propeller Protein-Associated Neurodegeneration (BPAN). *Front Genet*. 2017;8:18.

80. Verhoeven WMA, Egger JIM, Koolen DA, Yntema H, Olgiati S, Breedveld GJ, et al. Beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN), a rare form of NBIA: Novel mutations and neuropsychiatric phenotype in three adult patients. *Parkinsonism Relat Disord*. 1 mars 2014;20(3):332-6.

81. Wan H, Wang Q, Chen X, Zeng Q, Shao Y, Fang H, et al. WDR45 contributes to neurodegeneration through regulation of ER homeostasis and neuronal death. *Autophagy*. 23 juin 2019;16(3):531-47.

82. Alderson NL, Hama H. Fatty acid 2-hydroxylase regulates cAMP-induced cell cycle exit in D6P2T Schwannoma cells. *J Lipid Res*. juin 2009;50(6):1203-8.

83. Edvardson S, Hama H, Shaag A, Gomori JM, Berger I, Soffer D, et al. Mutations in the Fatty Acid 2-Hydroxylase Gene Are Associated with Leukodystrophy with Spastic Paraparesis and Dystonia. *Am J Hum Genet*. 17 nov 2008;83(5):643-8.

84. Kruer MC, Paisán-Ruiz C, Boddaert N, Yoon MY, Hama H, Gregory A, et al. Defective FA2H Leads to a Novel Form of Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation (NBIA). *Ann Neurol*. nov 2010;68(5):611-8.

85. Rattay TW, Lindig T, Baets J, Smets K, Deconinck T, Söhn AS, et al. FAHN/SPG35: a narrow phenotypic spectrum across disease classifications. *Brain*. juin 2019;142(6):1561-72.

86. Eckhardt M, Yaghoofam A, Fewou SN, Zöllner I, Gieselmann V. A mammalian fatty acid hydroxylase responsible for the formation of α -hydroxylated galactosylceramide in myelin. *Biochem J.* 15 mai 2005;388(Pt 1):245-54.
87. Alderson NL, Rembiesa BM, Walla MD, Bielawska A, Bielawski J, Hama H. The Human FA2H Gene Encodes a Fatty Acid 2-Hydroxylase. *J Biol Chem.* 19 nov 2004;279(47):48562-8.
88. Bras J, Singleton A, Cookson MR, Hardy J. POTENTIAL ROLE OF CERAMIDE METABOLISM IN LEWY BODY DISEASE. *FEBS J.* déc 2008;275(23):5767-73.
89. Zöllner I, Meixner M, Hartmann D, Büsow H, Meyer R, Gieselmann V, et al. Absence of 2-Hydroxylated Sphingolipids Is Compatible with Normal Neural Development But Causes Late-Onset Axon and Myelin Sheath Degeneration. *J Neurosci.* 24 sept 2008;28(39):9741-54.
90. Dusi S, Valletta L, Haack TB, Tsuchiya Y, Venco P, Pasqualato S, et al. Exome Sequence Reveals Mutations in CoA Synthase as a Cause of Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation. *Am J Hum Genet.* 2 janv 2014;94(1):11-22.
91. Annesi G, Gagliardi M, Iannello G, Quattrone A, Iannello G, Quattrone A. Mutational analysis of COASY in an Italian patient with NBIA. *Parkinsonism Relat Disord.* 1 juill 2016;28:150-1.
92. Evers C, Seitz A, Assmann B, Opladen T, Karch S, Hinderhofer K, et al. Diagnosis of CoPAN by whole exome sequencing: Waking up a sleeping tiger's eye. *Am J Med Genet A.* 2017;173(7):1878-86.
93. van Dijk T, Ferdinandusse S, Ruiters JPN, Alders M, Mathijssen IB, Parboosingh JS, et al. Biallelic loss of function variants in COASY cause prenatal onset pontocerebellar hypoplasia, microcephaly, and arthrogryposis. *Eur J Hum Genet.* déc 2018;26(12):1752-8.
94. Zhyvoloup A, Nemazanyy I, Panasyuk G, Valovka T, Fenton T, Rebholz H, et al. Subcellular Localization and Regulation of Coenzyme A Synthase. *J Biol Chem.* 12 déc 2003;278(50):50316-21.
95. Nemazanyy I, Panasyuk G, Breus O, Zhyvoloup A, Filonenko V, Gout IT. Identification of a novel CoA synthase isoform, which is primarily expressed in the brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 24 mars 2006;341(4):995-1000.
96. Chinnery PF, Crompton DE, Birchall D, Jackson MJ, Coulthard A, Lombès A, et al. Clinical features and natural history of neuroferritinopathy caused by the FTL1 460InsA mutation. *Brain J Neurol.* janv 2007;130(Pt 1):110-9.
97. Levi S, Finazzi D. Neurodegeneration with brain iron accumulation: update on pathogenic mechanisms. *Front Pharmacol.* 2014;5:99.

98. Batla A, Adams ME, Erro R, Ganos C, Balint B, Mencacci NE, et al. Cortical pencil lining in neuroferritinopathy: A diagnostic clue. *Neurology*. 28 avr 2015;84(17):1816-8.
99. McNeill A, Birchall D, Hayflick SJ, Gregory A, Schenk JF, Zimmerman EA, et al. T2* and FSE MRI distinguishes four subtypes of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Neurology*. 29 avr 2008;70(18):1614-9.
100. Arosio P, Levi S. Cytosolic and mitochondrial ferritins in the regulation of cellular iron homeostasis and oxidative damage. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj*. 1 août 2010;1800(8):783-92.
101. Mancuso M, Davidzon G, Kurlan RM, Tawil R, Bonilla E, Di Mauro S, et al. Hereditary ferritinopathy: a novel mutation, its cellular pathology, and pathogenetic insights. *J Neuropathol Exp Neurol*. avr 2005;64(4):280-94.
102. Cozzi A, Rovelli E, Frizzale G, Campanella A, Amendola M, Arosio P, et al. Oxidative stress and cell death in cells expressing L-ferritin variants causing neuroferritinopathy. *Neurobiol Dis*. 1 janv 2010;37(1):77-85.
103. Deng X, Vidal R, Englander EW. ACCUMULATION OF OXIDATIVE DNA DAMAGE IN BRAIN MITOCHONDRIA IN MOUSE MODEL OF HEREDITARY FERRITINOPATHY. *Neurosci Lett*. 19 juill 2010;479(1):44-8.
104. Miyajima H, Takahashi Y, Kono S. Aceruloplasminemia, an inherited disorder of iron metabolism. *Biometals Int J Role Met Ions Biol Biochem Med*. mars 2003;16(1):205-13.
105. Brissot P, Ropert M, Le Lan C, Loréal O. Non-transferrin bound iron: A key role in iron overload and iron toxicity. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj*. 1 mars 2012;1820(3):403-10.
106. Kaneko K, Hineno A, Yoshida K, Ohara S, Morita H, Ikeda S. Extensive brain pathology in a patient with aceruloplasminemia with a prolonged duration of illness. *Hum Pathol*. 1 mars 2012;43(3):451-6.
107. Mariani R, Arosio C, Pelucchi S, Grisoli M, Piga A, Trombini P, et al. Iron chelation therapy in aceruloplasminemia: study of a patient with a novel missense mutation. *Gut*. mai 2004;53(5):756-8.
108. Patel BN, Dunn RJ, Jeong SY, Zhu Q, Julien J-P, David S. Ceruloplasmin Regulates Iron Levels in the CNS and Prevents Free Radical Injury. *J Neurosci*. 1 août 2002;22(15):6578-86.
109. Alazami AM, Al-Saif A, Al-Semari A, Bohlega S, Zlitni S, Alzahrani F, et al. Mutations in C2orf37, Encoding a Nucleolar Protein, Cause Hypogonadism, Alopecia, Diabetes Mellitus, Mental Retardation, and Extrapyrmidal Syndrome. *Am J Hum Genet*. 12 déc

2008;83(6):684-91.

110. Woodhouse NJ, Sakati NA. A syndrome of hypogonadism, alopecia, diabetes mellitus, mental retardation, deafness, and ECG abnormalities. *J Med Genet.* juin 1983;20(3):216-9.

111. Abusrair AH, Bohlega S, Al-Semari A, Al-Ajlan FS, Al-Ahmadi K, Mohamed B, et al. Brain MR Imaging Findings in Woodhouse-Sakati Syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol.* déc 2018;39(12):2256-62.

112. Koshy G, Danda S, Thomas N, Mathews V, Viswanathan V. Three siblings with Woodhouse-Sakati syndrome in an Indian family. *Clin Dysmorphol.* janv 2008;17(1):57-60.

113. Najim al-Din AS, Wriekat A, Mubaidin A, Dasouki M, Hiari M. Pallido-pyramidal degeneration, supranuclear upgaze paresis and dementia: Kufor-Rakeb syndrome. *Acta Neurol Scand.* mai 1994;89(5):347-52.

114. Schneider SA, Paisan-Ruiz C, Quinn NP, Lees AJ, Houlden H, Hardy J, et al. ATP13A2 mutations (PARK9) cause neurodegeneration with brain iron accumulation. *Mov Disord.* 2010;25(8):979-84.

115. Di Fonzo A, Chien HF, Socal M, Giraud S, Tassorelli C, Iliceto G, et al. ATP13A2 missense mutations in juvenile parkinsonism and young onset Parkinson disease. *Neurology.* 8 mai 2007;68(19):1557-62.

116. Ramonet D, Podhajska A, Stafa K, Sonnay S, Trancikova A, Tsika E, et al. PARK9-associated ATP13A2 localizes to intracellular acidic vesicles and regulates cation homeostasis and neuronal integrity. *Hum Mol Genet.* 15 avr 2012;21(8):1725-43.

117. Usenovic M, Tresse E, Mazzulli JR, Taylor JP, Krainc D. Deficiency of ATP13A2 Leads to Lysosomal Dysfunction, α -Synuclein Accumulation, and Neurotoxicity. *J Neurosci.* 21 mars 2012;32(12):4240-6.

118. Grünewald A, Arns B, Seibler P, Rakovic A, Münchau A, Ramirez A, et al. ATP13A2 mutations impair mitochondrial function in fibroblasts from patients with Kufor-Rakeb syndrome. *Neurobiol Aging.* 1 août 2012;33(8):1843.e1-1843.e7.

119. Kett LR, Stiller B, Bernath MM, Tasset I, Blesa J, Jackson-Lewis V, et al. α -Synuclein-Independent Histopathological and Motor Deficits in Mice Lacking the Endolysosomal Parkinsonism Protein Atp13a2. *J Neurosci.* 8 avr 2015;35(14):5724-42.

120. Ferdinandusse S, Kostopoulos P, Denis S, Rusch H, Overmars H, Dillmann U, et al. Mutations in the Gene Encoding Peroxisomal Sterol Carrier Protein X (SCPx) Cause Leukencephalopathy with Dystonia and Motor Neuropathy. *Am J Hum Genet.* juin 2006;78(6):1046-52.

121. Horvath R, Lewis-Smith D, Douroudis K, Duff J, Keogh M, Pyle A, et al. SCP2

mutations and neurodegeneration with brain iron accumulation. *Neurology*. 24 nov 2015;85(21):1909-11.

122. Seedorf U, Raabe M, Ellinghaus P, Kannenberg F, Fobker M, Engel T, et al. Defective peroxisomal catabolism of branched fatty acyl coenzyme A in mice lacking the sterol carrier protein-2/sterol carrier protein-x gene function. *Genes Dev*. 15 avr 1998;12(8):1189-201.

123. Jaberi E, Rohani M, Shahidi GA, Nafissi S, Arefian E, Soleimani M, et al. Identification of mutation in GTPBP2 in patients of a family with neurodegeneration accompanied by iron deposition in the brain. *Neurobiol Aging*. 1 févr 2016;38:216.e11-216.e18.

124. Bertoli-Avella AM, Garcia-Aznar JM, Brandau O, Al-Hakami F, Yüksel Z, Marais A, et al. Biallelic inactivating variants in the GTPBP2 gene cause a neurodevelopmental disorder with severe intellectual disability. *Eur J Hum Genet*. avr 2018;26(4):592-8.

125. Ishimura R, Nagy G, Dotu I, Zhou H, Yang X-L, Schimmel P, et al. Ribosome stalling induced by mutation of a CNS-specific tRNA causes neurodegeneration. *Science*. 25 juill 2014;345(6195):455-9.

126. Drecourt A, Babdor J, Dussiot M, Petit F, Goudin N, Garfa-Traoré M, et al. Impaired Transferrin Receptor Palmitoylation and Recycling in Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation. *Am J Hum Genet*. 1 févr 2018;102(2):266-77.

127. Dergai O, Novokhatska O, Dergai M, Skrypkina I, Tsyba L, Moreau J, et al. Intersectin 1 forms complexes with SGIP1 and Reps1 in clathrin-coated pits. *Biochem Biophys Res Commun*. 12 nov 2010;402(2):408-13.

128. Davies MN, Kjalarsdottir L, Thompson JW, Dubois LG, Stevens RD, Ilkayeva OR, et al. The Acetyl Group Buffering Action of Carnitine Acetyltransferase Offsets Macronutrient-Induced Lysine Acetylation of Mitochondrial Proteins. *Cell Rep*. 12 janv 2016;14(2):243-54.

129. Roubertie A, Hieu N, Roux C-J, Leboucq N, Manes G, Charif M, et al. AP4 deficiency: A novel form of neurodegeneration with brain iron accumulation? *Neurol Genet*. févr 2018;4(1):e217.

130. Dafsari HS, Sprute R, Wunderlich G, Daimagüler H-S, Karaca E, Contreras A, et al. Novel mutations in KMT2B offer pathophysiological insights into childhood-onset progressive dystonia. *J Hum Genet*. août 2019;64(8):803-13.

131. Meyer E, Carss KJ, Rankin J, Nichols JME, Grozeva D, Joseph AP, et al. Mutations in the histone methyltransferase gene KMT2B cause complex early-onset dystonia. *Nat Genet*. févr 2017;49(2):223-37.

132. Herebian D, Alhaddad B, Seibt A, Schwarzmayer T, Danhauser K, Klee D, et al. Coexisting variants in OSTM1 and MANEAL cause a complex neurodegenerative disorder

with NBIA-like brain abnormalities. *Eur J Hum Genet.* sept 2017;25(9):1092-5.

133. Pantopoulos K, Porwal SK, Tartakoff A, Devireddy L. Mechanisms of mammalian iron homeostasis. *Biochemistry.* 24 juill 2012;51(29):5705-24.

134. Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 15 janv 2005;202(2):199-211.

135. Muckenthaler MU, Galy B, Hentze MW. Systemic Iron Homeostasis and the Iron-Responsive Element/Iron-Regulatory Protein (IRE/IRP) Regulatory Network. *Annu Rev Nutr.* 28 juill 2008;28(1):197-213.

136. Anderson CP, Shen M, Eisenstein RS, Leibold EA. Mammalian iron metabolism and its control by iron regulatory proteins. *Biochim Biophys Acta.* sept 2012;1823(9):1468-83.

137. Belaidi AA, Bush AI. Iron neurochemistry in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: targets for therapeutics. *J Neurochem.* 2016;139(S1):179-97.

138. Todorich B, Pasquini JM, Garcia CI, Paez PM, Connor JR. Oligodendrocytes and myelination: the role of iron. *Glia.* 1 avr 2009;57(5):467-78.

139. Sebastiani G, Pantopoulos K. Disorders associated with systemic or local iron overload: from pathophysiology to clinical practice. *Metallomics.* 1 oct 2011;3(10):971-86.

140. Petit F, Drecourt A, Dussiot M, Zangarelli C, Hermine O, Munnich A, et al. Defective palmitoylation of transferrin receptor triggers iron overload in Friedreich's ataxia fibroblasts. *Blood.* 2 févr 2021;

141. Masaldan S, Bush AI, Devos D, Rolland AS, Moreau C. Striking while the iron is hot: Iron metabolism and ferroptosis in neurodegeneration. *Free Radic Biol Med.* mars 2019;133:221-33.

142. Hare DJ, Double KL. Iron and dopamine: a toxic couple. *Brain J Neurol.* avr 2016;139(Pt 4):1026-35.

143. Silvestri L, Pagani A, Camaschella C. Furin-mediated release of soluble hemojuvelin: a new link between hypoxia and iron homeostasis. *Blood.* 15 janv 2008;111(2):924-31.

144. Moutton S, Fergelot P, Trocello J-M, Plante-Bordeneuve V, Houcinat N, Wenisch E, et al. A novel FTL mutation responsible for neuroferritinopathy with asymmetric clinical features and brain anomalies. *Parkinsonism Relat Disord.* 1 août 2014;20(8):935-7.

145. Chinnery PF, Crompton DE, Birchall D, Jackson MJ, Coulthard A, Lombès A, et al. Clinical features and natural history of neuroferritinopathy caused by the FTL1 460InsA mutation. *Brain J Neurol.* janv 2007;130(Pt 1):110-9.

146. Caparros-Lefebvre D, Destee A, Petit H. Late onset familial dystonia: could mitochondrial deficits induce a diffuse lesioning process of the whole basal ganglia system? *J*

Neurol Neurosurg Psychiatry. août 1997;63(2):196-203.

147. Monfrini E, Melzi V, Buongarzone G, Franco G, Ronchi D, Dilena R, et al. A de novo C19orf12 heterozygous mutation in a patient with MPAN. *Parkinsonism Relat Disord*. mars 2018;48:109-11.

148. Hogarth P, Gregory A, Kruer MC, Sanford L, Wagoner W, Natowicz MR, et al. New NBIA subtype. *Neurology*. 15 janv 2013;80(3):268-75.

149. Panteghini C, Zorzi G, Venco P, Dusi S, Reale C, Brunetti D, et al. C19orf12 and FA2H Mutations Are Rare in Italian Patients With Neurodegeneration With Brain Iron Accumulation. *Semin Pediatr Neurol*. juin 2012;19(2):75-81.

150. Takano K, Goto K, Motobayashi M, Wakui K, Kawamura R, Yamaguchi T, et al. Early manifestations of epileptic encephalopathy, brain atrophy, and elevation of serum neuron specific enolase in a boy with beta-propeller protein-associated neurodegeneration. *Eur J Med Genet*. 1 oct 2017;60(10):521-6.

151. Fusco C, Frattini D, Panteghini C, Pascarella R, Garavaglia B. A Case of Infantile Neuroaxonal Dystrophy of Neonatal Onset. *J Child Neurol*. 1 mars 2015;30(3):368-70.

152. Romani M, Kraoua I, Micalizzi A, Klaa H, Benrhouma H, Drissi C, et al. Infantile and childhood onset PLA2G6-associated neurodegeneration in a large North African cohort. *Eur J Neurol*. 2015;22(1):178-86.

153. Méneret A, Grabli D, Depienne C, Gaudebout C, Picard F, Dürr A, et al. PRRT2 mutations: a major cause of paroxysmal kinesigenic dyskinesia in the European population. *Neurology*. 10 juill 2012;79(2):170-4.

154. Luo H, Xie L, Hong S, Li X, Li M, Hu Y, et al. The Genotype and Phenotype of Proline-Rich Transmembrane Protein 2 Associated Disorders in Chinese Children. *Front Pediatr*. 10 mai 2021;9:676616.

155. Liang T-W, Truax AC, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Stern MB, Kotzbauer PT. Partial deficit of pantothenate kinase 2 catalytic activity in a case of tremor-predominant neurodegeneration with brain iron accumulation. *Mov Disord*. 2006;21(5):718-22.

156. Quadri M, Federico A, Zhao T, Breedveld GJ, Battisti C, Delnooz C, et al. Mutations in SLC30A10 Cause Parkinsonism and Dystonia with Hypermanganesemia, Polycythemia, and Chronic Liver Disease. *Am J Hum Genet*. 9 mars 2012;90(3):467-77.

157. Alves CAPF, Teixeira SR, Martin-Saavedra JS, Gonçalves FG, Russo FL, Muraresku C, et al. Pediatric Leigh Syndrome: Neuroimaging Features and Genetic Correlations. *Ann Neurol*. 2020;88(2):218-32.

158. Liu Z, Shimura M, Zhang L, Zhang W, Wang J, Ogawa-Tominaga M, et al. Whole

exome sequencing identifies a novel homozygous MECR mutation in a Chinese patient with childhood-onset dystonia and basal ganglia abnormalities, without optic atrophy. *Mitochondrion*. 1 mars 2021;57:222-9.

159. Monfermé S, Lasseaux E, Duncombe-Poulet C, Hamel C, Defoort-Dhellemmes S, Drumare I, et al. Mild form of oculocutaneous albinism type 1: phenotypic analysis of compound heterozygous patients with the R402Q variant of the TYR gene. *Br J Ophthalmol*. 1 sept 2019;103(9):1239-47.

160. Xu X, Wang Q, Zhang M. Age, gender, and hemispheric differences in iron deposition in the human brain: An in vivo MRI study. *NeuroImage*. 1 mars 2008;40(1):35-42.

161. Khattar N, Triebswetter C, Kiely M, Ferrucci L, Resnick SM, Spencer RG, et al. Investigation of the association between cerebral iron content and myelin content in normative aging using quantitative magnetic resonance neuroimaging. *NeuroImage*. 1 oct 2021;239:118267.

162. Hochstrasser H, Bauer P, Walter U, Behnke S, Spiegel J, Csoti I, et al. Ceruloplasmin gene variations and substantia nigra hyperechogenicity in Parkinson disease. *Neurology*. 23 nov 2004;63(10):1912-7.

163. Hochstrasser H, Tomiuk J, Walter U, Behnke S, Spiegel J, Krüger R, et al. Functional relevance of ceruloplasmin mutations in Parkinson's Disease. *FASEB J*. 2005;19(13):1851-3.

164. Grolez G, Moreau C, Sablonnière B, Garçon G, Devedjian J-C, Meguig S, et al. Ceruloplasmin activity and iron chelation treatment of patients with Parkinson's disease. *BMC Neurol*. 6 mai 2015;15:74.

165. Petit F, Drecourt A, Dussiot M, Zangarelli C, Hermine O, Munnich A, et al. Defective palmitoylation of transferrin receptor triggers iron overload in Friedreich ataxia fibroblasts. *Blood*. 15 avr 2021;137(15):2090-102.

166. Harding IH, Raniga P, Delatycki MB, Stagnitti MR, Corben LA, Storey E, et al. Tissue atrophy and elevated iron concentration in the extrapyramidal motor system in Friedreich ataxia: the IMAGE-FRDA study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1 nov 2016;87(11):1261-3.

167. Mahoney-Sánchez L, Bouchaoui H, Ayton S, Devos D, Duce JA, Devedjian J-C. Ferroptosis and its potential role in the physiopathology of Parkinson's Disease. *Prog Neurobiol*. janv 2021;196:101890.

168. Zhang B, Horvath S. A general framework for weighted gene co-expression network analysis. *Stat Appl Genet Mol Biol*. 2005;4:Article17.

169. Bettencourt C, Forabosco P, Wiethoff S, Heidari M, Johnstone DM, Botía JA, et al. Gene co-expression networks shed light into diseases of brain iron accumulation. *Neurobiol*

Dis. mars 2016;87:59-68.

170. Devos D, Moreau C, Devedjian JC, Kluza J, Petrault M, Laloux C, et al. Targeting chelatable iron as a therapeutic modality in Parkinson's disease. *Antioxid Redox Signal*. 10 juill 2014;21(2):195-210.

171. Moreau C, Danel V, Devedjian JC, Grolez G, Timmerman K, Laloux C, et al. Could Conservative Iron Chelation Lead to Neuroprotection in Amyotrophic Lateral Sclerosis? *Antioxid Redox Signal*. 10 sept 2018;29(8):742-8.

172. Zorzi G, Zibordi F, Chiapparini L, Bertini E, Russo L, Piga A, et al. Iron-related MRI images in patients with pantothenate kinase-associated neurodegeneration (PKAN) treated with deferiprone: results of a phase II pilot trial. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. 1 août 2011;26(9):1756-9.

173. Cossu G, Abbruzzese G, Matta G, Murgia D, Melis M, Ricchi V, et al. Efficacy and safety of deferiprone for the treatment of pantothenate kinase-associated neurodegeneration (PKAN) and neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA): results from a four years follow-up. *Parkinsonism Relat Disord*. juin 2014;20(6):651-4.

174. Lim S-Y, Tan AH, Ahmad-Annuar A, Schneider SA, Bee PC, Lim JL, et al. A Patient with Beta-Propeller Protein-Associated Neurodegeneration: Treatment with Iron Chelation Therapy. *J Mov Disord*. mai 2018;11(2):89-92.

175. Fonderico M, Laudisi M, Andreasi NG, Bigoni S, Lamperti C, Panteghini C, et al. Patient Affected by Beta-Propeller Protein-Associated Neurodegeneration: A Therapeutic Attempt with Iron Chelation Therapy. *Front Neurol*. 2017;8:385.

176. Gore E, Appleby BS, Cohen ML, DeBrosse SD, Leverenz JB, Miller BL, et al. Clinical and imaging characteristics of late onset mitochondrial membrane protein-associated neurodegeneration (MPAN). *Neurocase*. oct 2016;22(5):476-83.

177. Löbel U, Schweser F, Nickel M, Deistung A, Grosse R, Hagel C, et al. Brain iron quantification by MRI in mitochondrial membrane protein-associated neurodegeneration under iron-chelating therapy. *Ann Clin Transl Neurol*. déc 2014;1(12):1041-6.

178. Dusek P, Schneider SA, Aaseth J. Iron chelation in the treatment of neurodegenerative diseases. *J Trace Elem Med Biol Organ Soc Miner Trace Elem GMS*. déc 2016;38:81-92.

179. Ba Q, Zhou N, Duan J, Chen T, Hao M, Yang X, et al. Dihydroartemisinin Exerts Its Anticancer Activity through Depleting Cellular Iron via Transferrin Receptor-1. *PLoS ONE*. 10 août 2012;7(8):e42703.

180. Iankova V, Karin I, Klopstock T, Schneider SA. Emerging Disease-Modifying Therapies in Neurodegeneration With Brain Iron Accumulation (NBIA) Disorders. *Front*

Neurol. 15 avr 2021;12:629414.

181. Kinghorn KJ, Castillo-Quan JI. Mitochondrial dysfunction and defects in lipid homeostasis as therapeutic targets in neurodegeneration with brain iron accumulation. *Rare Dis Austin Tex.* 2016;4(1):e1128616.

182. Zanardi A, Conti A, Cremonesi M, D'Adamo P, Gilberti E, Apostoli P, et al. Ceruloplasmin replacement therapy ameliorates neurological symptoms in a preclinical model of aceruloplasminemia. *EMBO Mol Med.* janv 2018;10(1):91-106.

183. Zhou ZD, Tan E-K. Iron regulatory protein (IRP)-iron responsive element (IRE) signaling pathway in human neurodegenerative diseases. *Mol Neurodegener.* 23 oct 2017;12:75.

8 SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés. J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

Neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer : état des lieux, perspectives diagnostiques et thérapeutiques

Résumé : Les neurodégénérescences avec accumulation intracérébrale de fer, ou NBIA, sont un groupe de maladies rares, dont le point commun est une accumulation cérébrale de fer dans les noyaux gris centraux, principalement dans les globi pallidi et la substance noire, associée à des troubles neurologiques variés. La prévalence est ultra-rare, avec des présentations cliniques hétérogènes dans l'âge de début et l'évolution. Il existe actuellement 15 gènes responsables de NBIA. Le laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Bordeaux réalise depuis 2014 le séquençage de 9 de ces gènes, et a permis d'établir un diagnostic moléculaire chez 63 patients, permettant donc d'affiner et de compléter les phénotypes associés à chaque gène décrits dans la littérature. Cependant, 169 patients restent sans diagnostic moléculaire à l'issue de ce séquençage. Il ressort de l'analyse de ces données que la principale différence porte sur l'âge de début de la maladie, avec un âge nettement plus tardif pour les patients sans diagnostic à l'issue du panel. Nous avons réalisé un séquençage d'exome en trio pour 4 de ces patients. L'analyse de ces exomes n'a pas permis de dégager de piste diagnostique ; cependant, le séquençage d'exome présente de nombreuses limites, et une analyse non concluante à ce jour n'exclut pas la possibilité de réaliser dans le futur un diagnostic moléculaire pour ces patients. Enfin, la prise en charge des NBIA reste pour l'instant exclusivement symptomatique. Il existe de nombreuses pistes thérapeutiques actuellement en cours d'essai et de validation, une des plus sérieuses étant représentée par la chélation conservatrice du fer administrée à un stade précoce de la maladie, permettant de nourrir l'espoir d'un traitement dans un futur proche.

Mots clés : Neurodégénérescence avec accumulation intracérébrale de fer (NBIA), fer, noyaux gris centraux, séquençage à très haut débit, chélation conservatrice du fer

Neurodegeneration with brain iron accumulation: review of the literature, diagnostic and therapeutic perspectives

Abstract : Neurodegeneration with brain iron accumulation, or NBIA, is a group of rare diseases, which have in common a cerebral accumulation of iron in the basal ganglia, mainly in the globi pallidi and substantia nigra, associated with various neurological symptoms. The prevalence is ultra-rare, with heterogeneous clinical presentations in age of onset and evolution. There are currently 15 genes responsible for NBIA. The laboratory of molecular biology of Bordeaux University Hospital has been sequencing 9 of these genes since 2014 and has made it possible to make a diagnosis in 63 patients, thus refining and completing the phenotypes associated with each gene described in the literature. However, 169 patients remain without a molecular diagnosis after this sequencing. The analysis of the data of these patients shows that the main difference is the age of onset of the disease, with a significantly later age for patients without a diagnosis at the end of the panel. We performed trio exome sequencing for 4 of these patients. The analysis of these exomes did not identify a single-gene diagnostic; however, exome sequencing has many limitations, and does not exclude the possibility of performing a molecular diagnosis for these patients in the future. Finally, the management of NBIA remains symptomatic. There are many treatments currently being tested and validated, one of the most serious being conservative iron chelation, delivered at early stages of the disease, which gives hope of a treatment in the near future for these patients.

Keywords: Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA), iron, basal ganglia, very high throughput sequencing, conservative iron chelation

Discipline : Génétique médicale

UFR DES SCIENCES MEDICALES, 146 rue Léo Saignat CS 61292, 33076 Bordeaux CEDEX