

Biosynthèse de l'hème et Porphyries humaines

Pr Jean-Charles Deybach et Pr Hervé Puy

Centre Français des Porphyries

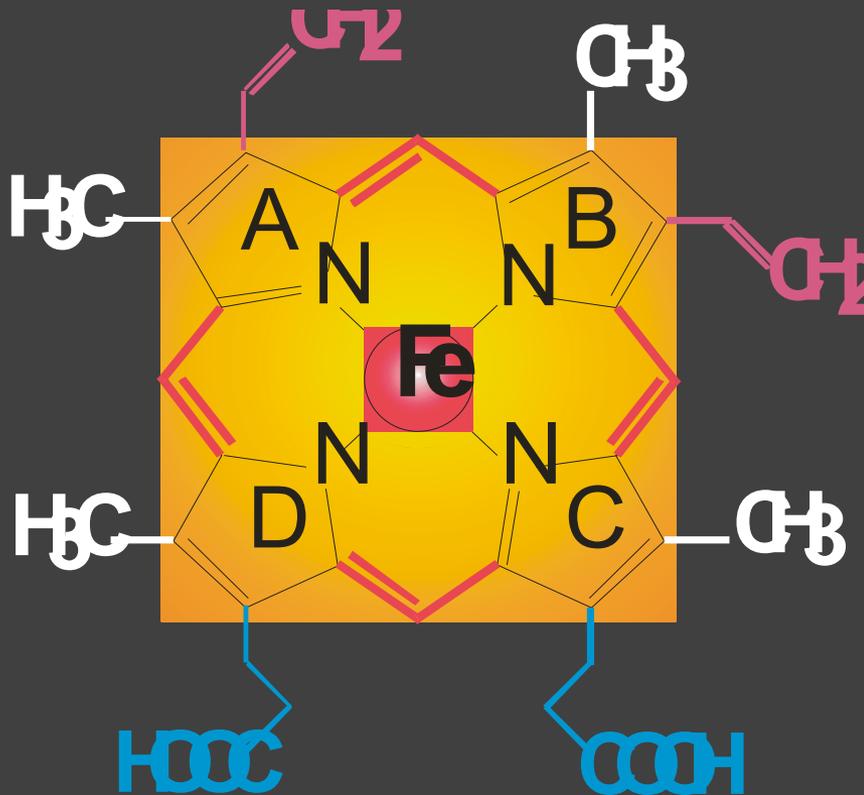
Hôpital louis Mourier – HU Paris Nord Val de seine – Université D. Diderot Paris 7



www.porphyrie.net / www.porphyria-europe.org

L'hème

= protoporphyrine IX + Fer



Hémoprotéines

Transport et stockage de l'O₂

Hémoglobine / Myoglobine

Respiration cellulaire

Cyt. chaîne respiratoire

Détoxification

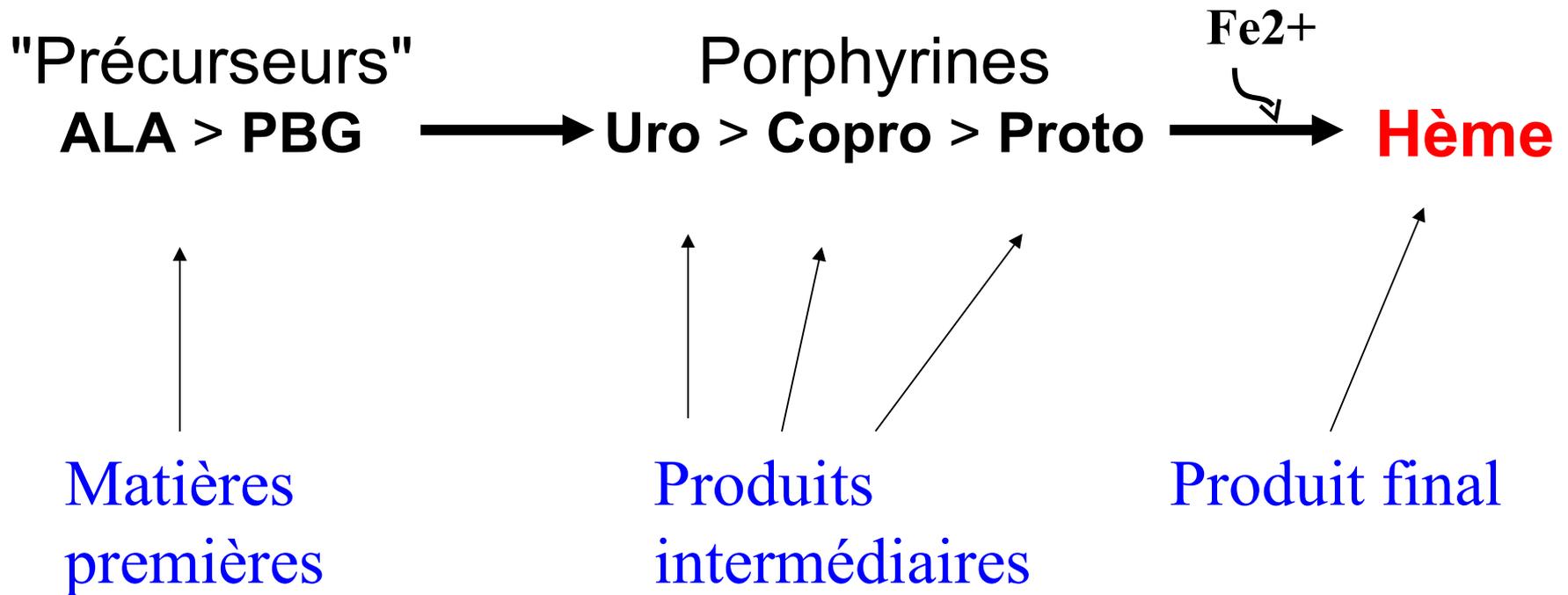
Cytochromes P450

Décomposition de H₂O₂

Catalase / peroxydase

...

Biosynthèse de l'Hème



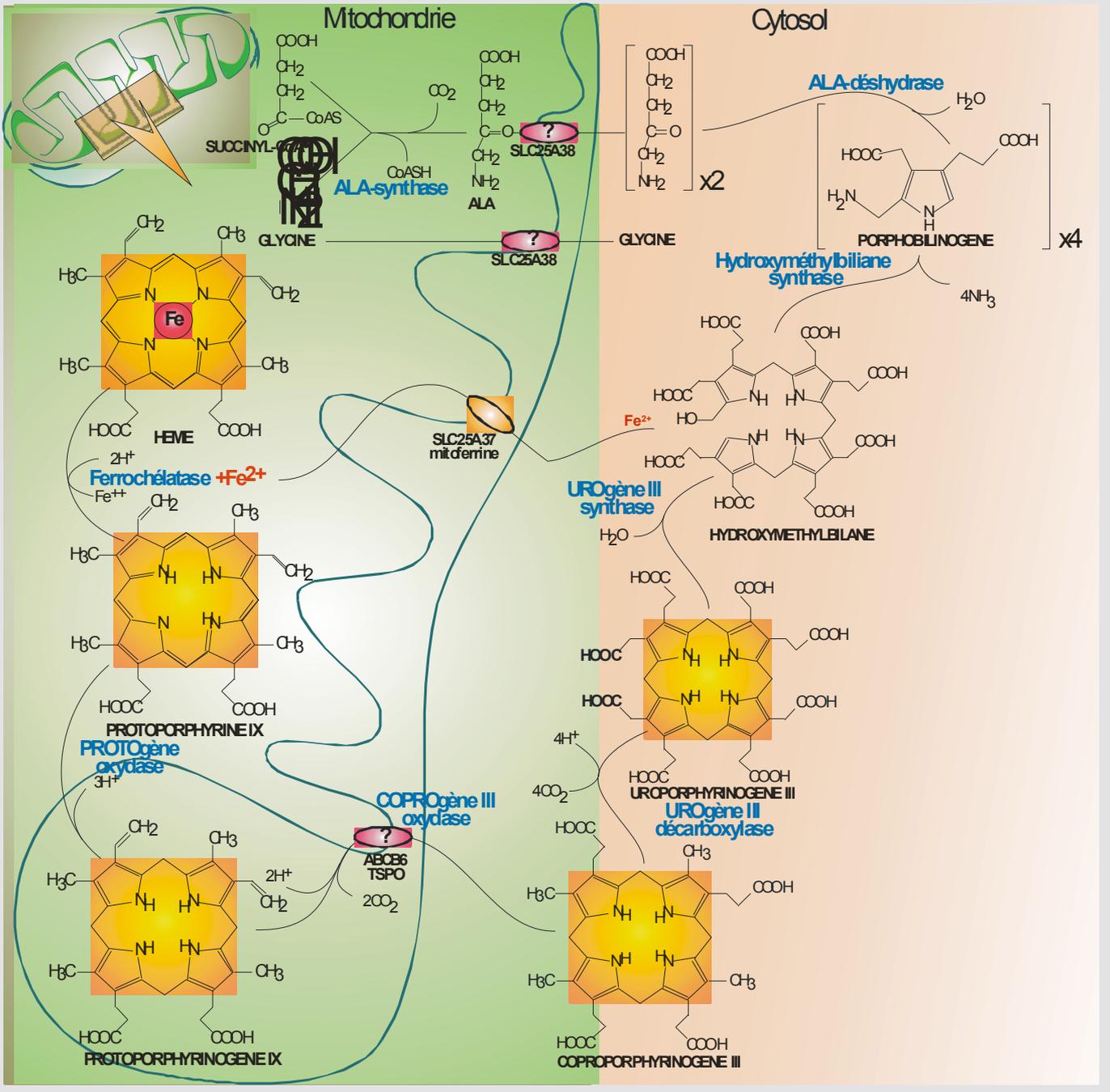
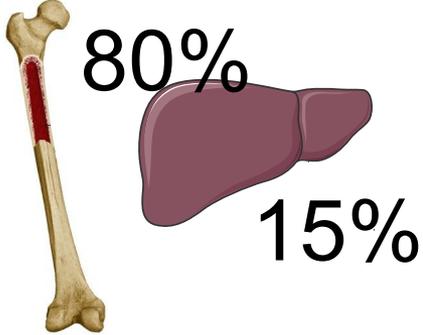
ALA : Acide delta-aminolévulinique **PBG** : Porphobilinogène

Biosynthèse de l'Hème

MITOCHONDRIE

CYTOSOL





Compartmentation cellulaire

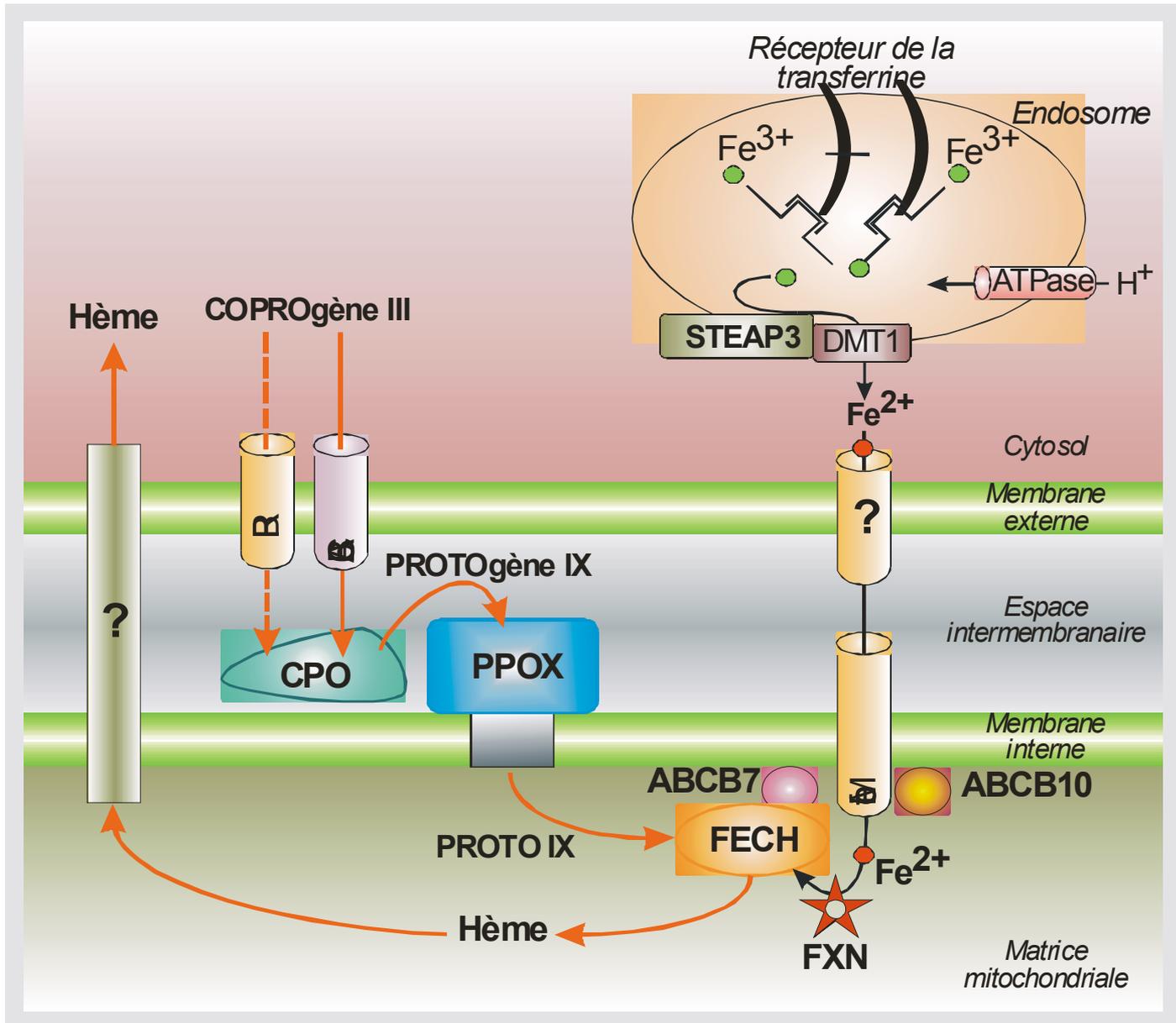
8 enzymes

Régulation tissu-spécifique
ALAS1, ALAS2

ALA, PBG
 Précurseurs des porphyrines

URO, COPRO, PROTO
 Intermédiaires porphyrinogènes et porphyrines

Complexe multi-enzymatique terminal



Régulation de la synthèse d'Hème

- 2 sites majeurs de production :
 - **La moëlle** : 80% (transport O₂)
 - **Le foie** et autres tissus : 20% (oxydations)
 - ***Flux métaboliques adaptés et donc différents***
- 2 systèmes de régulation « tissus spécifiques »
 - Erythroïde (E) et Non érythroïde (NE)***
 - Spécificité 1ère étape : **ALA synthase**, même activité enzymatique, 2 gènes différents **ALAS1** (NE) et **ALAS2** (E)
 - Etapes 2 et 3 : 2 promoteurs alternatifs (E, NE)

Genes of Heme synthesis

E : Erythroïd *NE* : Non Erythroïd

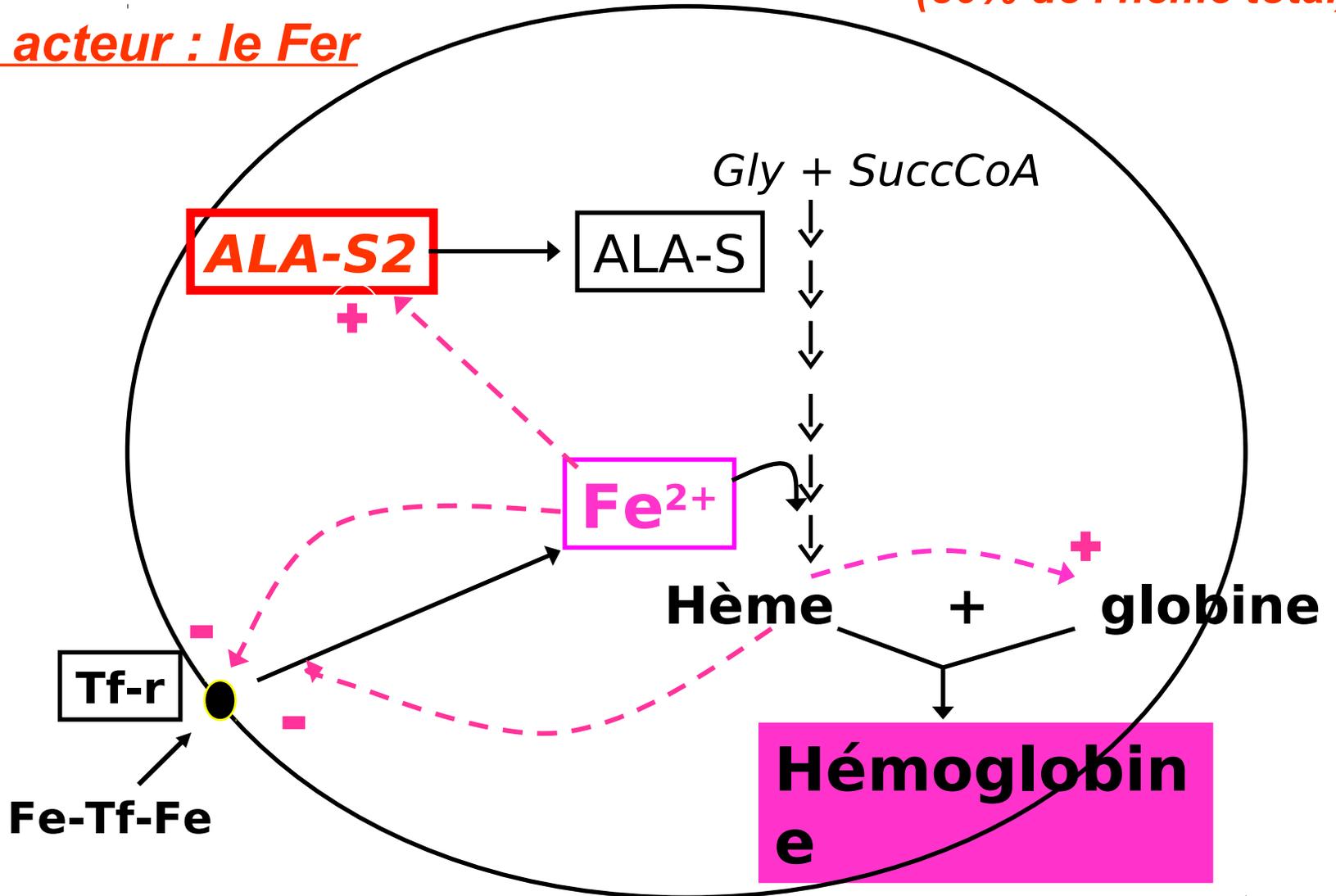
U : Ubiquitous

<i>ALAS2</i>	X	E
<i>ALAS1</i>	3	U
<i>ALAD</i>	9	NE E (prom.)
<i>PBGD</i>	11	NE E (prom.)
<i>UROS</i>	10	U
<i>UROD</i>	1	U
<i>CPOX</i>	3	U
<i>PPOX</i>	1	U
<i>FECH</i>	18	NE E polyA

Régulation de la Synthèse Erythroïde de l'Hème

(80% de l'hème total)

un acteur : le Fer

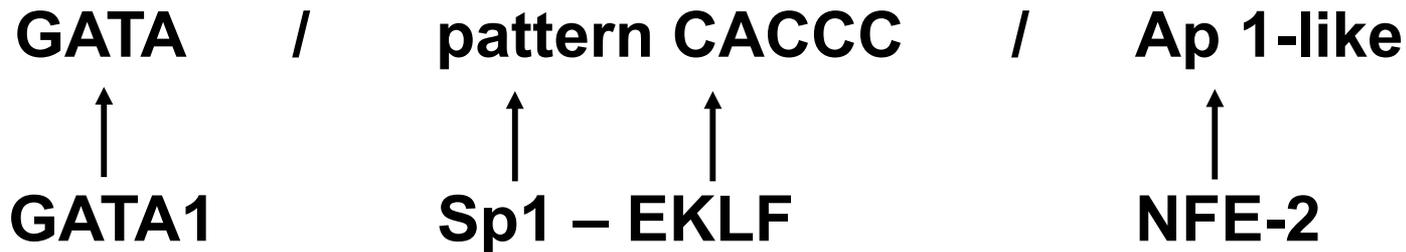


« Fast » ALAS2 Regulation

- **Transcription**

Promotor regulatory elements:

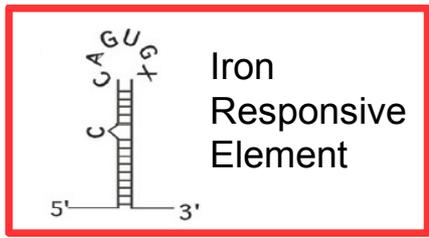
Cis activating erythroid factors



- **Post Transcription +++ → IRE / IRP**

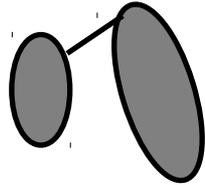
5' non-coding region 1 motif : ALAS2, H&L Ferr, ferroportine....

3' non-coding region 3 to 5 motifs : rTf, DMT1/Nramp2...



Regulation through IRP/IRE interaction

Low iron concentration

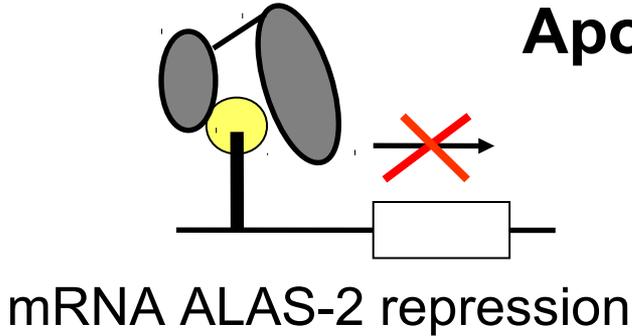


free iron pool

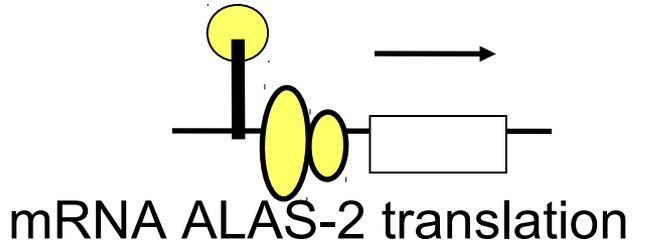


High iron concentration

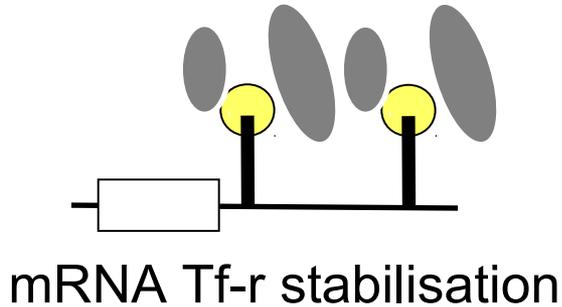
[4Fe-4S]-IRP



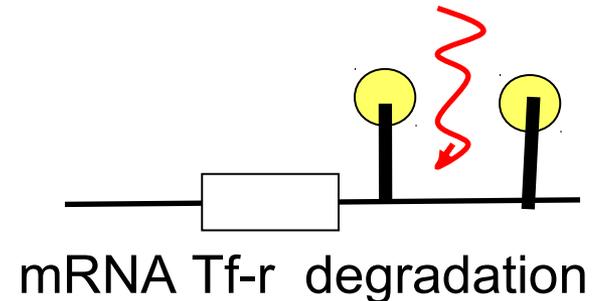
↘ **ALAS-2**



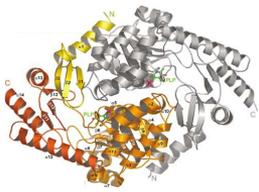
↗ **ALAS-2**



↗ **Tf receptor**

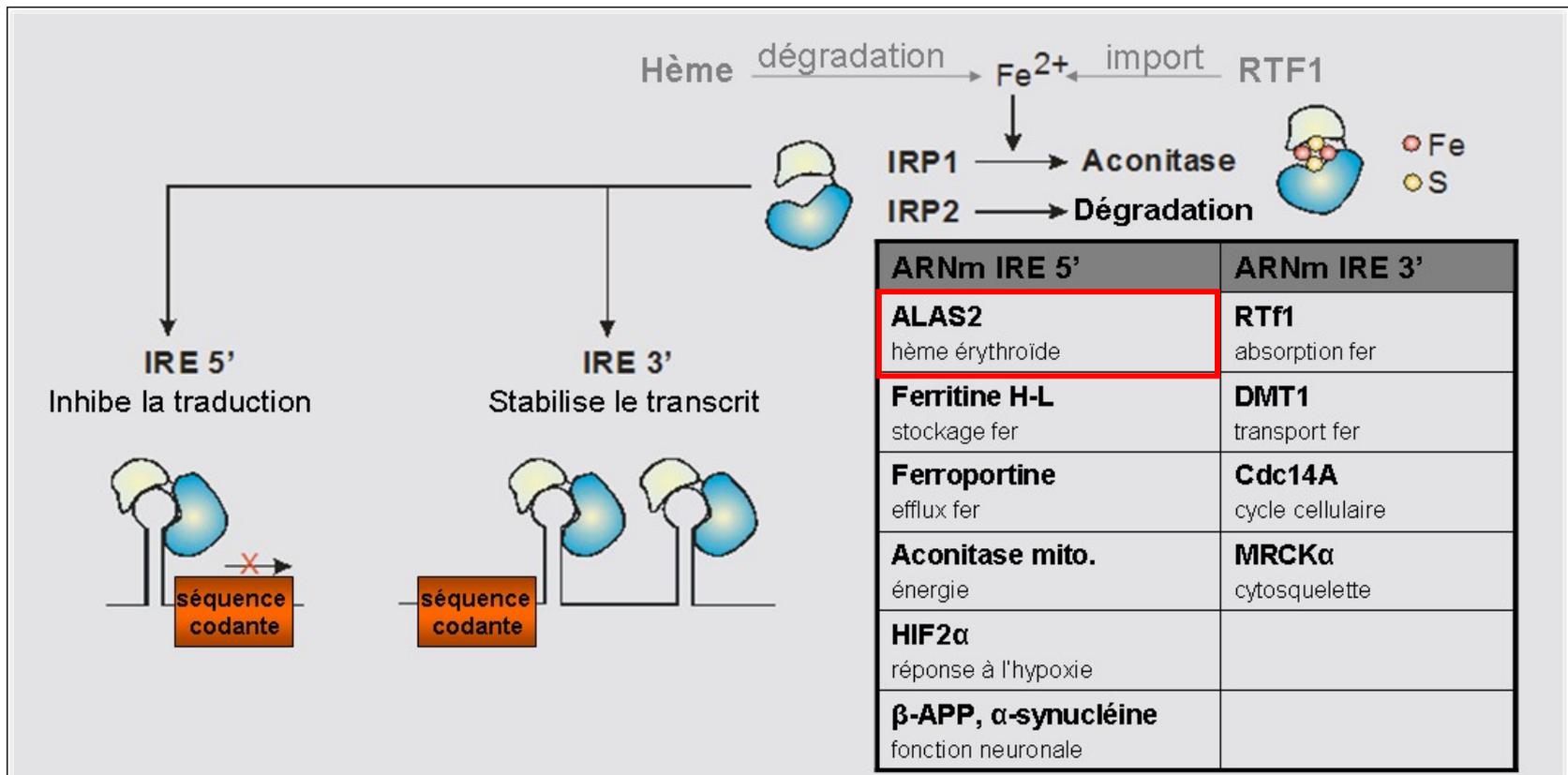


↘ **Tf receptor**



Régulation érythroïde de la production d'hème

- Biodisponibilité du fer : clef de la régulation érythroïde



« Fast » ALAS2 Regulation (2)

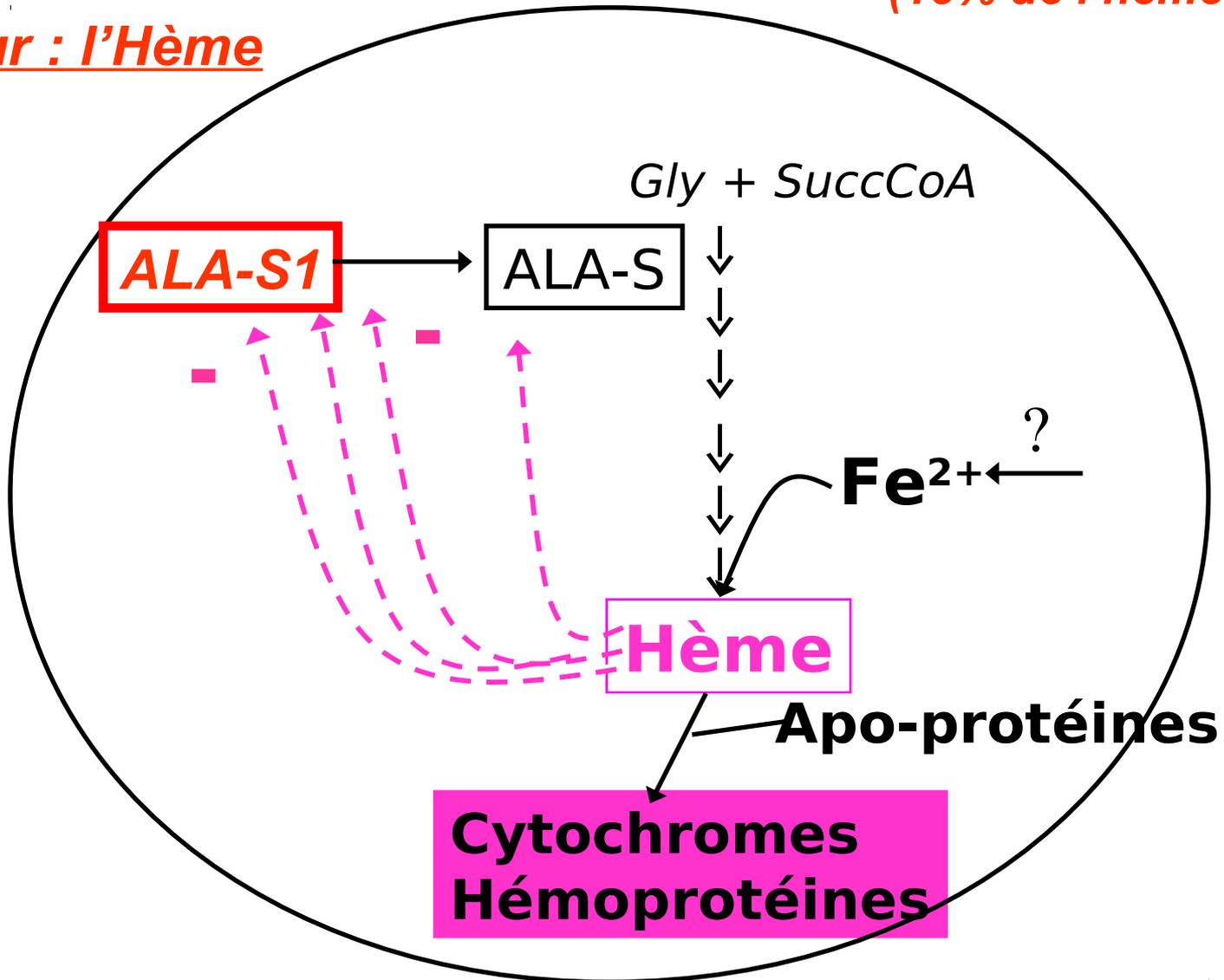
- **Post Translation**

- ⇒ **mitochondrial targeting with succinyl CoA synthase anchorage : 49 aa presequence with 3 C/P rich domains**
- ⇒ **Enzymatic activity : structural modification : *gain of function (ex XLDPP)***

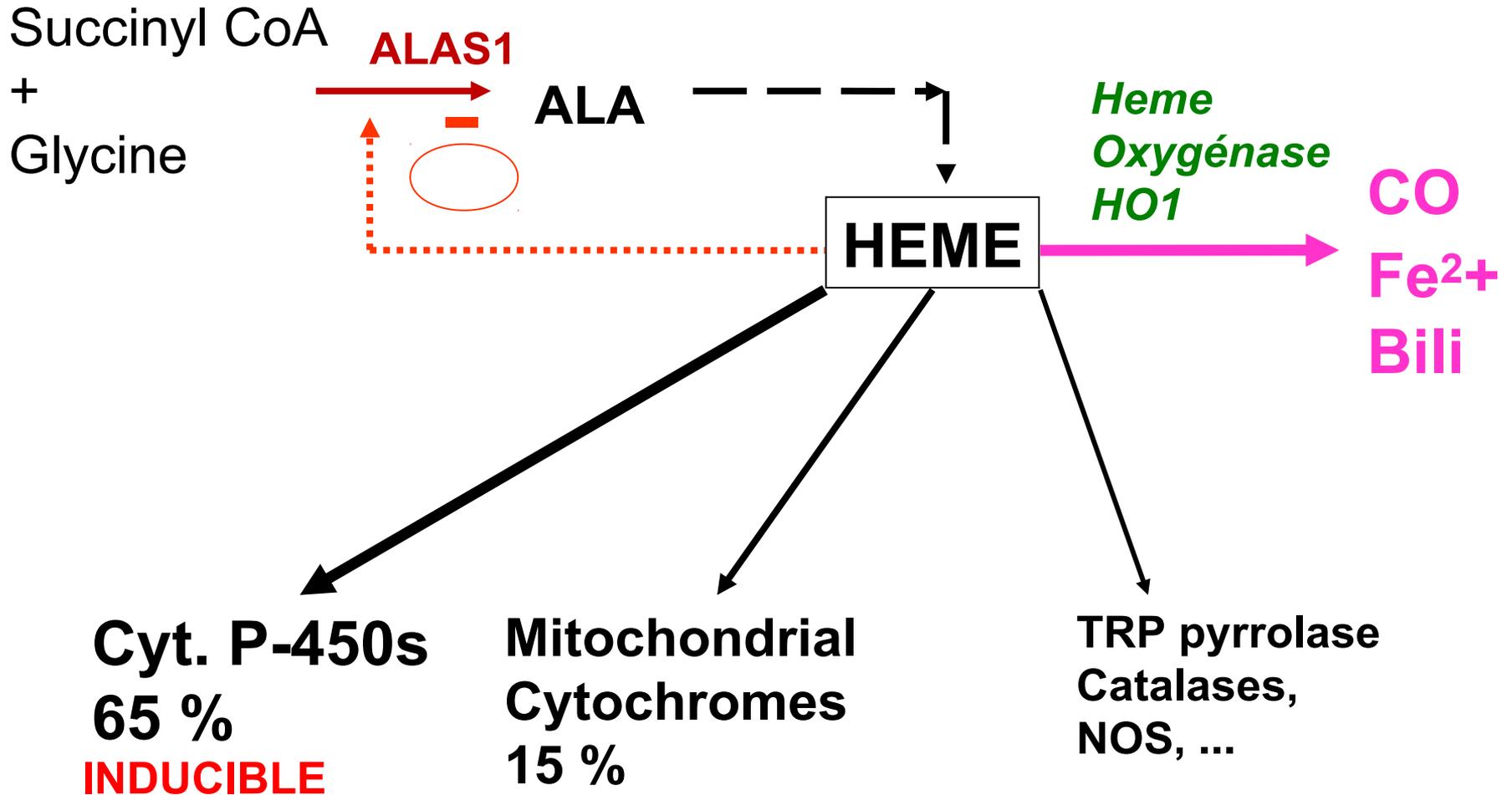
Régulation de la Synthèse Hépatique de l'Hème

(15% de l'hème total)

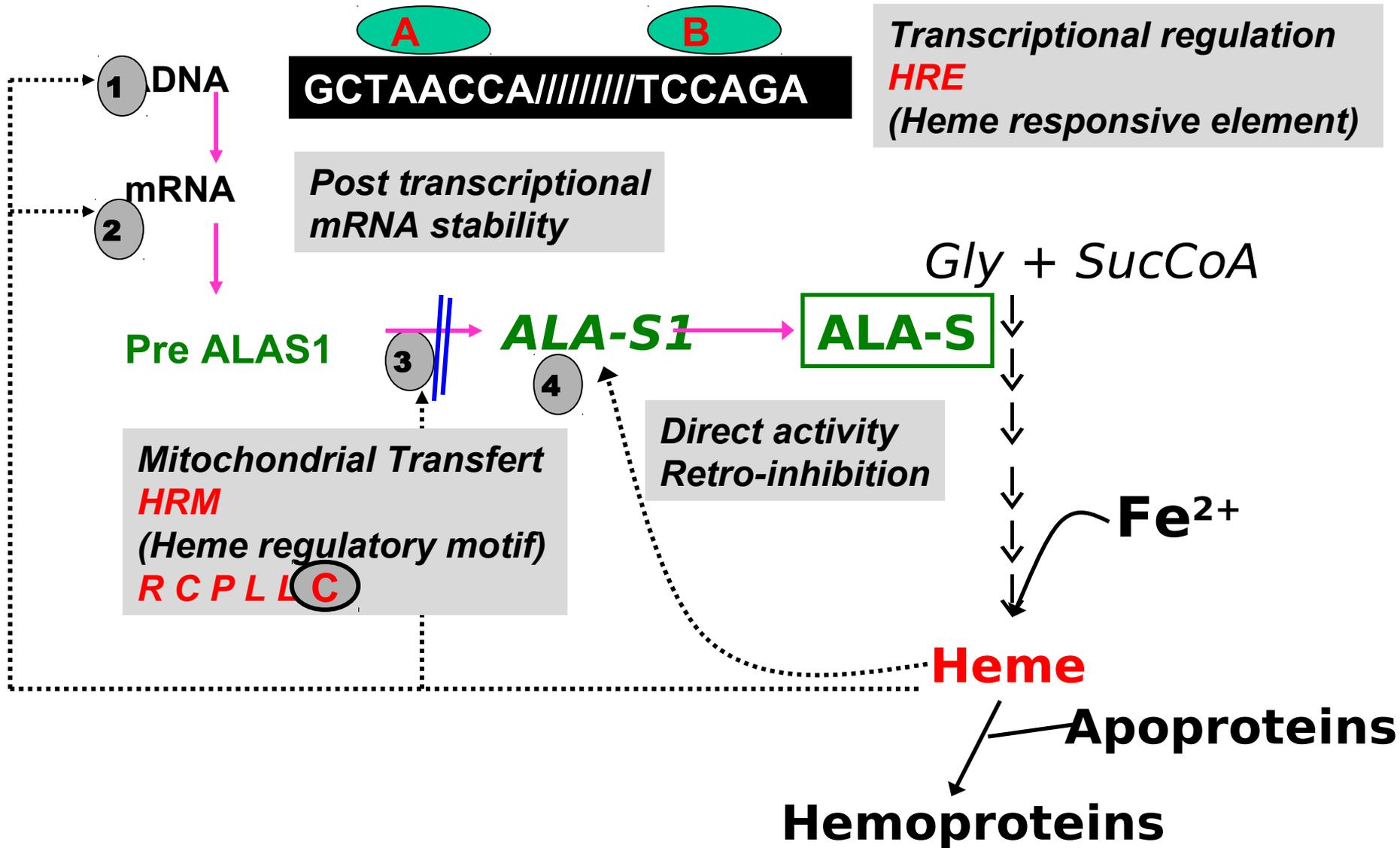
un acteur : l'Hème



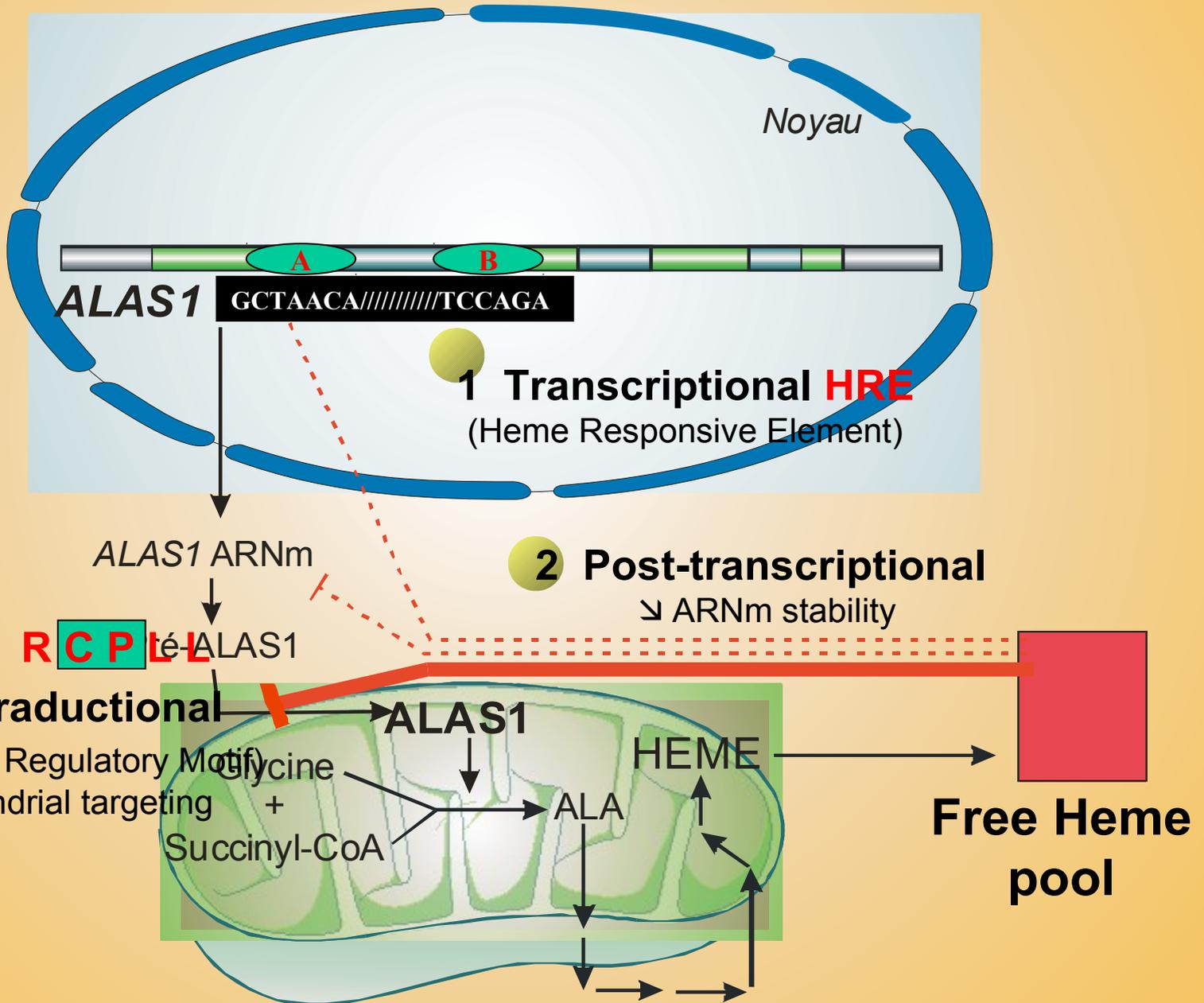
Hepatic Heme Synthesis metabolism



Mecanisms of ALA S1 repression



Steady State Inhibition of ALAS1



Les Porphyrries

“Obscure diseases with confusing names considered only when the need for a diagnosis is desperate” *(Pr Antony McDonagh, 1997)*

- *Deficit héréditaire en ALAD*
- *Porphyrie Aiguë Intermittente*
- *Coproporphyrrie Héréditaire*
- *Porphyrie Variegata*
- *Porphyrie Cutanée Tardive*
- *Porphyrie Erythropoïétique Congénitale*
- *Protoporphyrrie Erythropoïétique*
- *Protoporphyrrie Dominante Liée à l’X*



Les Porphyrries héréditaires

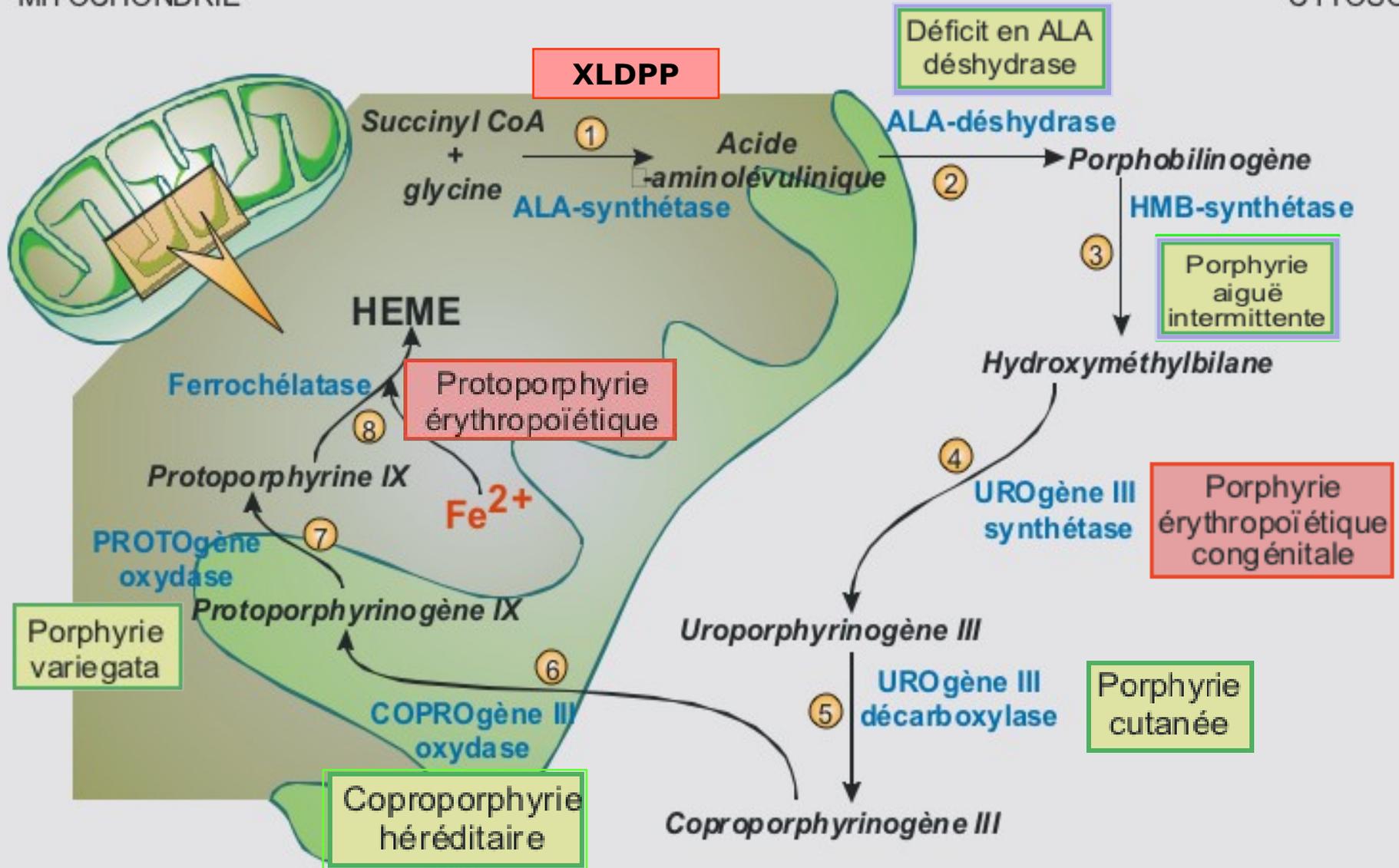
- 8 Maladies *rare*s (1/50 000)
- Transmission variable : autosomique, dominante ou récessive, liée à l'X
- 1 par *gain de fonction* de la première enzyme et 7 dues à un *déficit partiel* de l'activité des enzymes suivantes de la chaîne de synthèse de l'hème,
- Production anormale de *porphyrines* et/ou des *précurseurs* dans le foie et /ou la moëlle (► sang, urines, selles,)
- Crises aiguës neuroviscérales *intermittentes* et/ou signes cutanés photo induits
- Pénétrance faible et expression clinique variable
- Facteurs déclenchants endogènes et exogènes

...du grec « porphyre » : pigment rouge

Biosynthèse de l'hème et porphyrines

MITOCHONDRIE

CYTOSOL



Classification des 8 Porphyries Héréditaires

- ***Porphyries aiguës neurologiques***
 - Porphyrie par déficit en ALAD (PDA)
 - Porphyrie aiguë intermittente (PAI)
 - Coproporphyrine héréditaire (CH)
 - Porphyrie variegata (PV)
- ***Porphyries cutanées bulleuses/érosives***
 - Porphyrie érythropoïétique congénitale (PEC)
 - Porphyrie Cutanée Tardive (PCTf/PCTs)
- ***Porphyries cutanées photo-algiques***
 - Protoporphyrine érythropoïétique (PPE)
 - Protoporphyrine liée à l'X (XLDPP)

(*Hépatique* / *Erythropoïétique*)

Porphyries : les symptômes

- **Crises aiguës « neuroviscérales »,**
liées à l'accumulation des précurseurs (ALA+++)

*Seulement les Porphyries hépatiques aiguës :
PAI, CH, PV*

- **Lésions cutanées, bulleuses ou algiques**
induites par le rayonnement solaire
(photosensibilité), dues à l'accumulation de
porphyrines dans la peau

Toutes les porphyries, sauf la PAI

Maladie de Günther ou PEC

La porphyrie la plus rare



A.

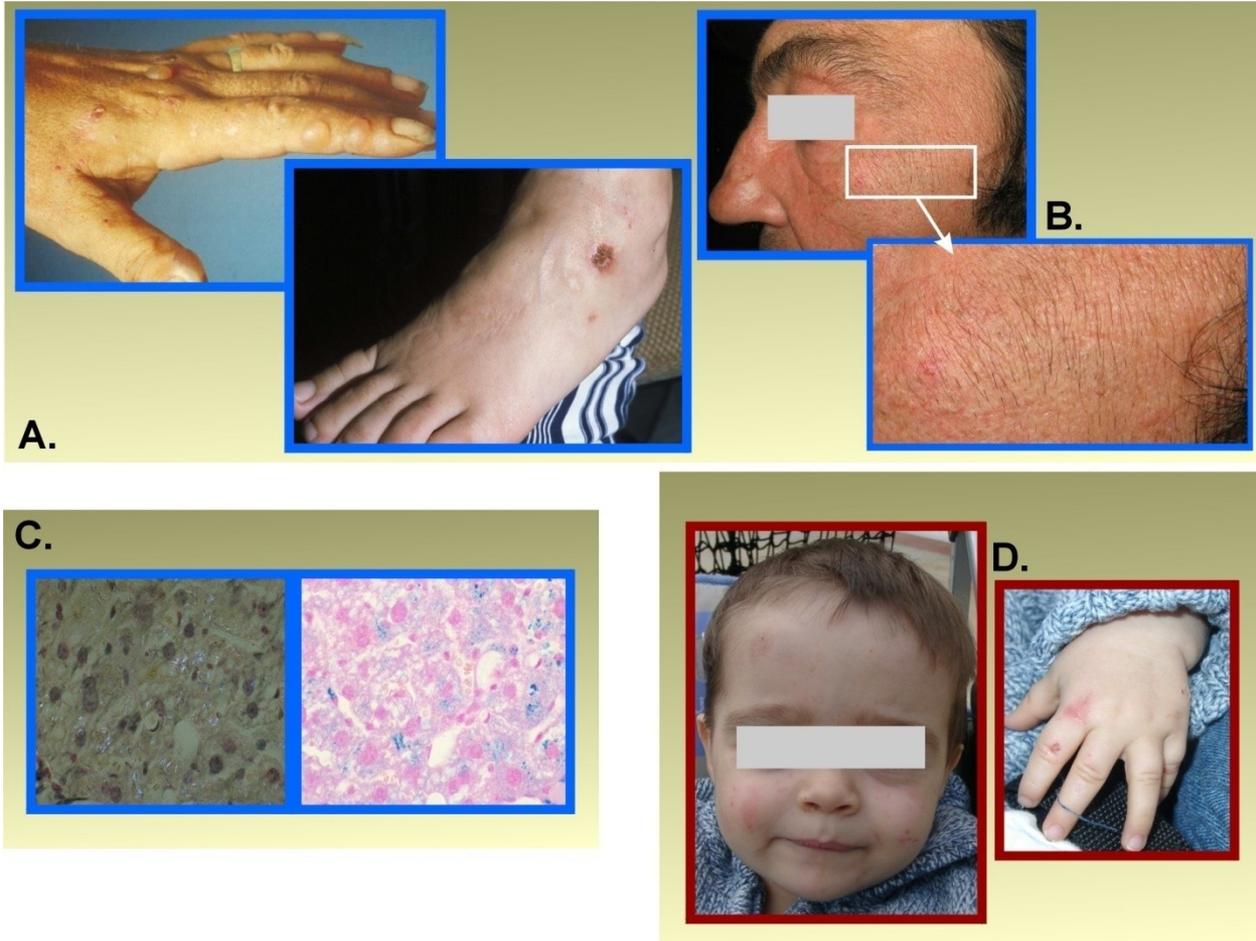


B.



C.

PCT sporadique ou familiale les porphyries les plus fréquentes



Porphyries Hépatiques Aiguës

Melle C..., 19 ans, (Mère: Infirmière)

Janv 1998 : Hôpital Louis Mourier,

Service des Urgences → Chirurgie :

- Douleurs abdominales +++, nausées ++, vomissements ++
- Examen clinique négatif sauf tachychardie isolée
- Radio abdomen négative, Échographie : kyste ovaire dt
- Biologie normale...Na : 133
- Aucun ATCD familial notable
- Pas de réel diagnostic de sortie : pancréatite médic.? / kyste ovarien? / «agitation nerveuse»
- hospitalisation « écourtée » en chirurgie après tt intempestif par Haldol
- Le CFP n'a pas été sollicité...

Pendant les 3 mois suivants : plusieurs autres hôpitaux...

- Perte de 10 kilos
- Douleurs abdominales récurrentes, intenses, sur plusieurs jours, en période lutéale +++, uniquement soulagées par les opiacés
- Pas de diagnostic sinon histrionisme et/ou toxicomanie,

1. Mme M. 25 ans

1. Crises douloureuses abdominales récurrentes mensuelles sur plus de 14 mois
2. Δg de *volvulus intermittent du caecum*
3. Hémi-colectomie droite...
4.Réanimation : tétraplégie, hyperalgie, Δg de **PAI** après 6 jours
5. Récupération lente après arginate d'hémine (*Normosang*®)
6. Evolution : crises abdominales récurrentes (8-10 j) et douleurs neurogènes épaules/membres sup
7. Tt *Normosang*® peu efficace, 1-2 jours sans douleurs/semaine
8. **transplantation hépatique** en Août 2009 (CHU Lyon)
9. Suite simple, [ALA/PBG U] normale, plus de crises abdominales mais persistance de douleurs neurogènes

2. Mme B. 36 ans, Le Havre

- ATCD : épilepsie familiale (gardéнал jusqu'à 10 ans), appendicectomie, 3 grossesses normales
- **PAI** : crise aiguë sévère en Nov 95, après des semaines d'épisodes douloureux abdominaux sans diagnostic, révélée par état de mal convulsif après laparotomie exploratrice (CH Le Havre):
 - 10 mois en réa, 236 J de VA, 302 J de cathé central, complications infectieuses nombreuses
 - Poly-Neuropathie axonale très sévère avec tétraplégie et atteinte phrénique bilatérale
 - Après 12 mois de rééducation : déficit moteur complet des releveurs, pieds orteils, incomplet sur les autres muscles des 4 membres (MS gauche ++), réflexes rotuliens abolis, troubles sensitifs superficiels et profond des MI...

Mme B. *suite*

Etat actuel :

- marche avec 2 cannes
- Douleurs neurogènes MS
- Depuis 2000 : Crises douloureuses abdominales récurrentes (ts les 10-15 J), traitées par NORMOSANG, opiacés et glucose
- **Transplantation hépatique** en Juin 2008 (CHU de Caen)
- IR aiguë en post op sur fond d'IR chronique modérée
- [ALA/PBG U] normale, plus de crise douloureuse
- Pas de récupération des déficits moteurs
- Dec 2009 : IR avec créat à 250, liste d'attente greffe

Crise aiguë de porphyrie : caractéristiques cliniques générales

- ***Chez moins de 1 porteur sur 10***
- **Femmes (80 %), hommes (20 %)**
- **Survenue entre 20 et 45 ans, exceptionnelle avant la puberté**
- **Douleurs abdominales : symptômes majeurs**
- **Risque de neuropathie (paralysie +++)**
- **Facteurs déclenchants (jeûne, infections, cycle hormonal, médicaments, alcool, choc affectif, stress,...)**

Crise aiguë de porphyrie: Incidence des symptômes

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

la crise aiguë de porphyrie est une neuropathie

Neuro-végétative

Douleur abdominale

Constipation

Vomissements

Hypertension

Tachycardie

Périphérique

Neuropathie motrice

Douleur des extrémités

SNC

Anxiété

Hallucinations

Agitation

Epilepsies

PAI : Séquelles neuro



Diagnostic biologique (1)

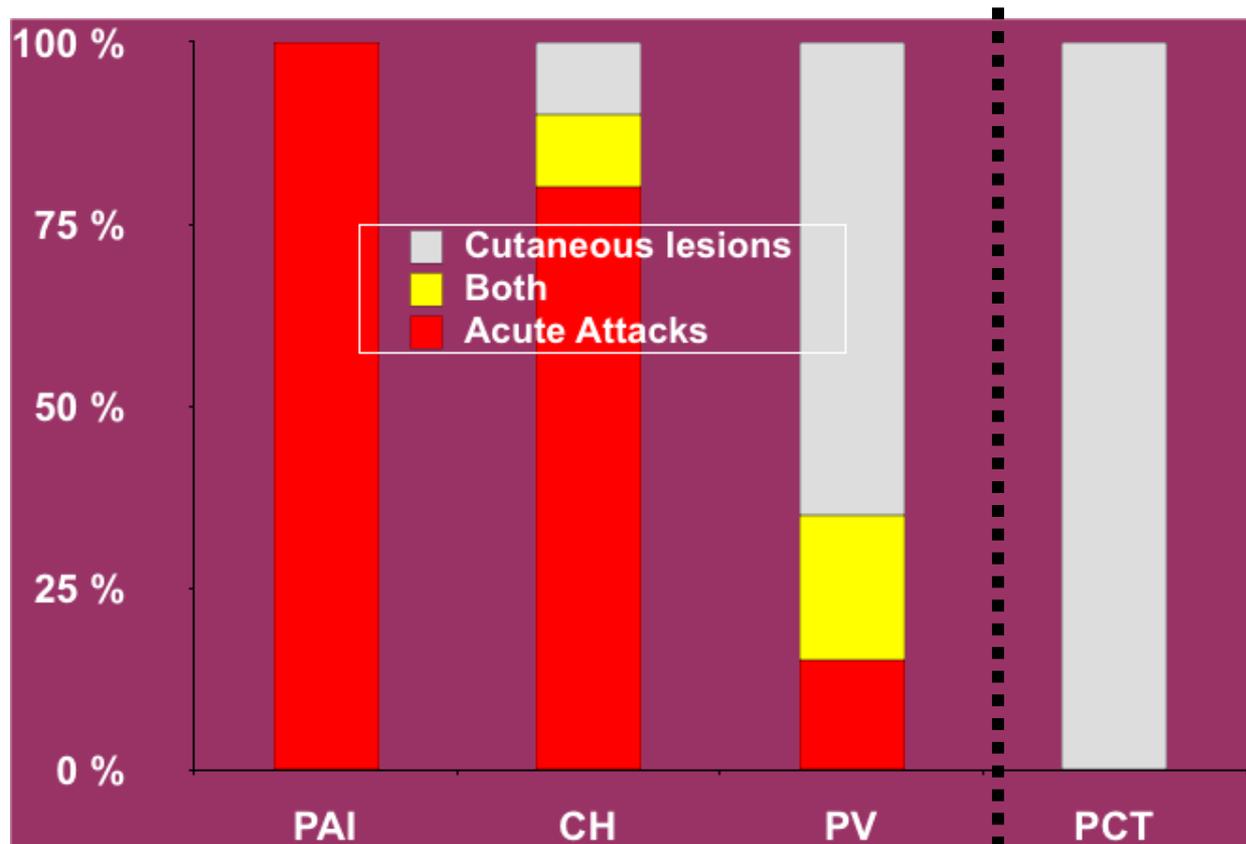
- **ALA, PBG dans les urines**
 - crise aiguë de porphyrie hépatique
- **ALA, PBG et porphyrines dans les urines, les selles et le plasma**
 - Type de porphyrie hépatique aiguë
 - Orientation du diagnostic enzymatique

Diagnostic biologique (2)

- **Déficit enzymatique spécifique**
 - Confirmation du type de porphyrie
 - Identification des porteurs présymptomatiques dans la famille du patient (*approche probabiliste*)
- **Analyse de l'ADN : diagnostic moléculaire**
 - Identification de la mutation familiale spécifique → Identification des porteurs asymptomatiques dans la famille du patient (*diagnostic de certitude*)

Porphyries Hépatiques Aiguës

crises aiguës vs signes cutanés



PH
Aiguës

Lésions cutanées dans la Porphyrie Cutanée et Porphyrie Variegata



Traitement d'une crise aiguë de porphyrie

- **Hospitalisation**
- **Eviction de tous les facteurs déclenchants classiques (médicaments, alcool, jeûne...)**
- **Traitement des infections intercurrentes**
- **Prise en charge de la douleur et du stress : Opiacés et chlorpromazine**
- **Hydrates de carbone (200-300 g/jour)**
- **Perfusion précoce de Normosang® (hémine humaine, 3 mg/kg/24 heures x 4 jours)**

Traitement Hémine humaine (Normosang®)

*Amélioration clinique rapide dans 99% des cas
(CFP: >2000 crises aiguës traitées 1986-2011)*

- Disparition douleurs abdo 2-3 jours
- Diminution ALA/PBG urines (1/5) 2-3 jours
- Durée moyenne hospitalisation 3-5 jours
- Complications neurologiques exceptionnelles
- Peu d'effets indésirables
- Pas de contre-indication pendant la grossesse

Histoire «naturelle » (PAI)

Porteurs du gène HMBS muté : 40 000

Causes ???

→ Dépistage familial

→ Prévention

Malades avec crises aiguës : 600

1-2 crises dans la vie
90%

Intermittents
< 4 crises/an
5%

récurrents
> 5 crises/an
5%

Thérapeutiques actuelles des porphyries hépatiques aiguës et perspectives

- Le **Normosang[®]** ... efficace pour les crises aiguës sévères
- La **Transplantation Hépatique** : à réserver aux patients récurrents avec impact sérieux sur leur qualité de vie
- Les **Enzymes Recombinants** humains :
Rappel : Porphozyme[®] (PBG Désaminase, PAI), essai clinique négatif (6 patients en France + Europe, USA) *pas de ciblage hépatique*
Nouveaux vecteurs pour ciblage hépatique +++
- La **Thérapie Génique** :, pour la PAI horizon 2013 , Adéno virus recombinant, Espagne seulement, 8 patients (*à noter : pour la PEC programme de thérapie génique annulé*)
- *Et toujours la **Prévention...***

Principes de la prévention des crises aiguës

- **Maitriser les facteurs déclenchants**
- **Médicaments “porphyrinogéniques”**
- **Identifier les porteurs présymptomatiques dans les familles connues**

La prévention des crises aiguës : les facteurs déclenchants

- **Infections**
- **Causes hormonales**
- **Restriction calorique**
- **Médicaments**
- **Alcool**
- **Tabagisme (?)**
- **Inconnus...**

Prévention : Du bon usage des médicaments dans les PHA

- L'intérêt du patient d'abord (bénéfice/risque)
- Chacun est son propre contrôle
- Un porteur « sain » est moins à risque
- Mais prudence toujours :
 - Surveillance des symptômes anormaux, dosage PBG urinaire avant/après

www.drugs-porphyria.org

*Il n'y a pas de risque vital pour la porphyrie cutanée
Les porphyries érythropoïétiques ne sont pas concernées*

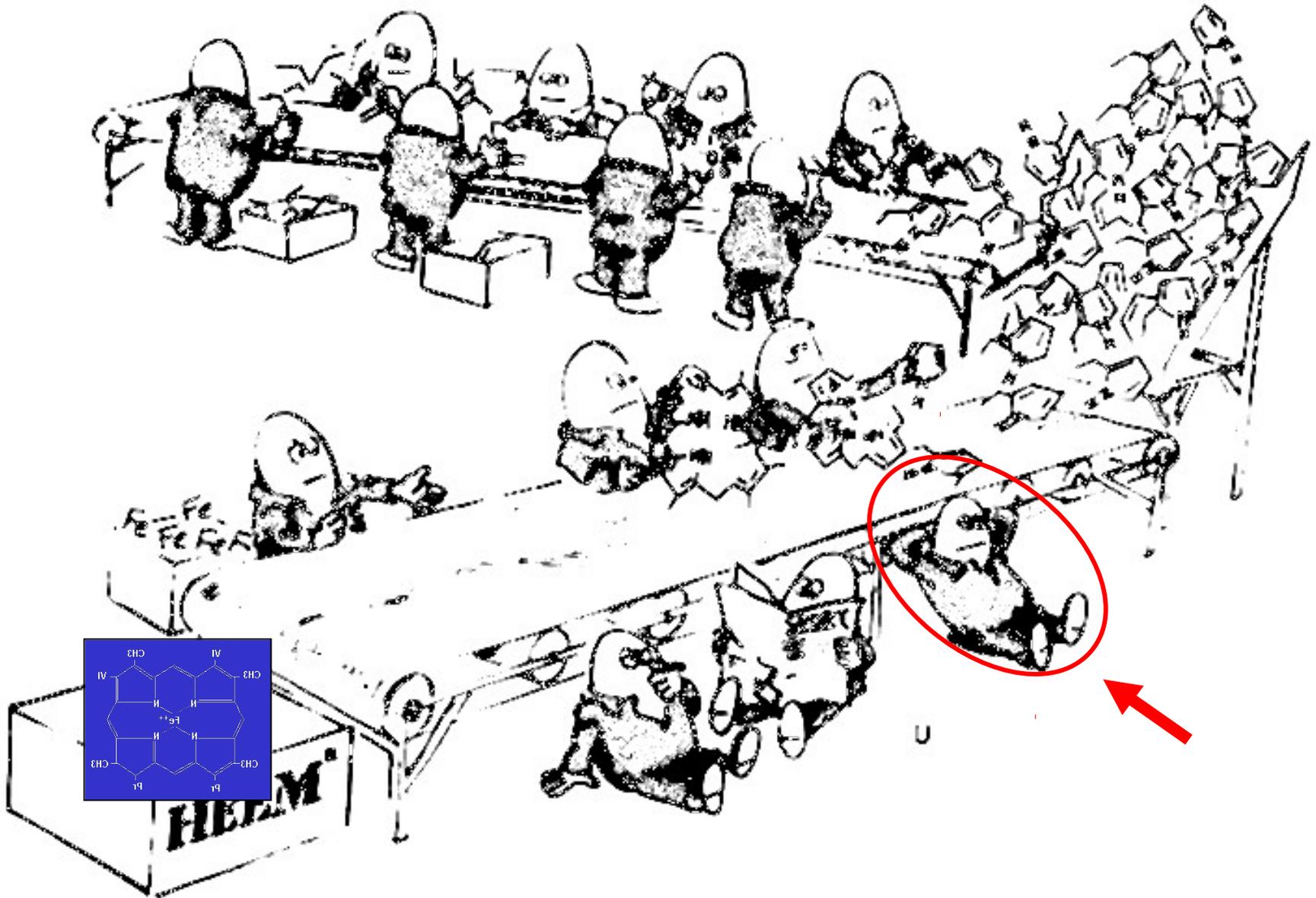
Génétique des porphyries hépatiques aiguës

- Autosomique et dominante
- Prévalence (PAI) : gène muté 1/1600
maladie 1/10⁶
- Grande hétérogénéité allélique des mutations
- Tx de mutation *de novo* faible (<3%)
- Rares variants « homozygotes »
- Pénétrance incomplète (<2%, mécanismes?)
- Quelques patients avec crises récurrentes, modulation du phénotype ?
- Physiopathologie ? Pas de vrai modèle animal...

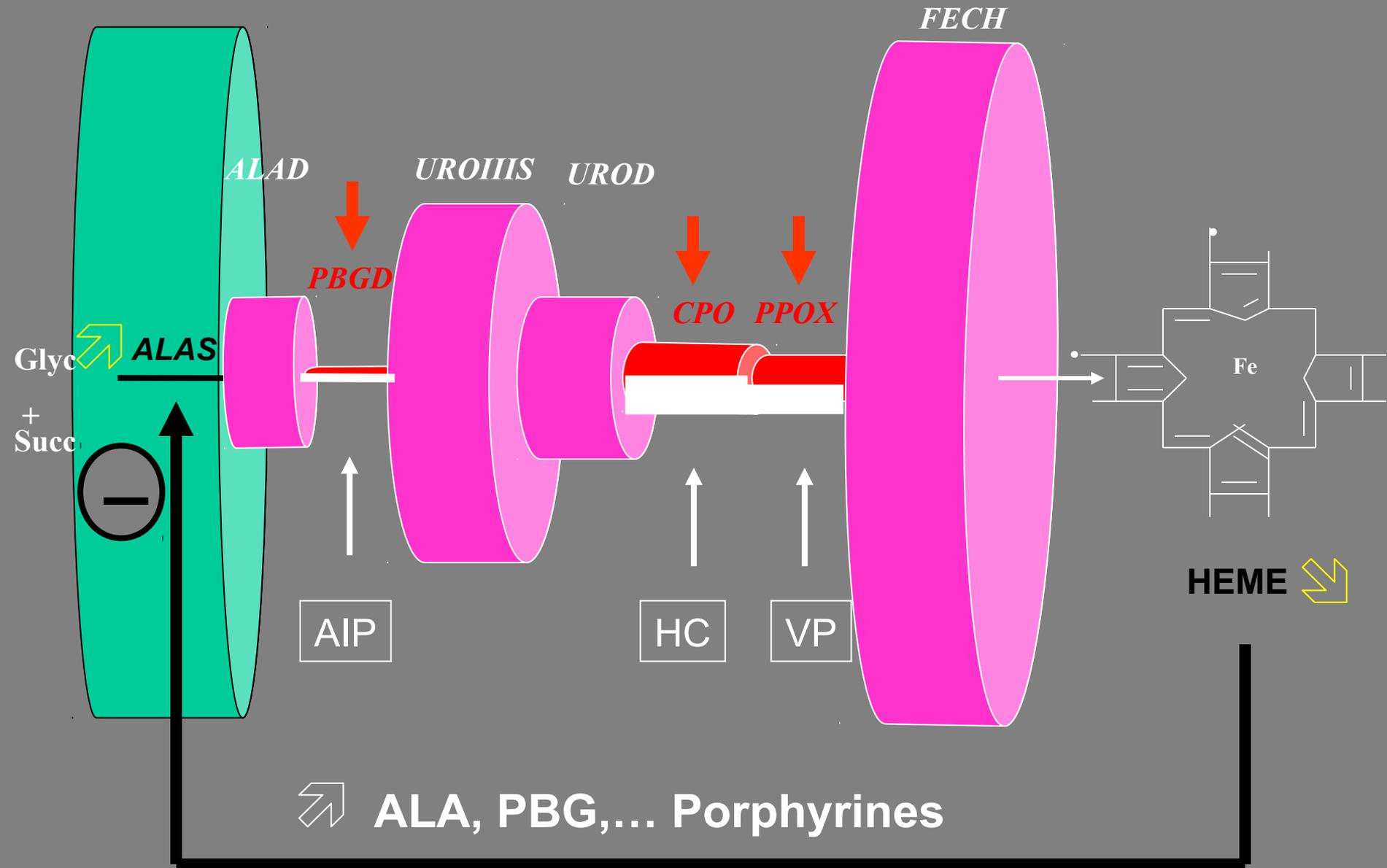
Caractéristiques biochimiques des crises aiguës de porphyrie

- Déficit enzymatique spécifique
- Augmentation marquée de l'activité **ALA Synthase (ALAS1)** première enzyme régulatrice de la chaîne dans le foie
- Surproduction, accumulation et élimination accrue d'**ALA** et de **PBG**
- Profil d'excrétion des **porphyrines**, *variable* selon le siège du déficit enzymatique

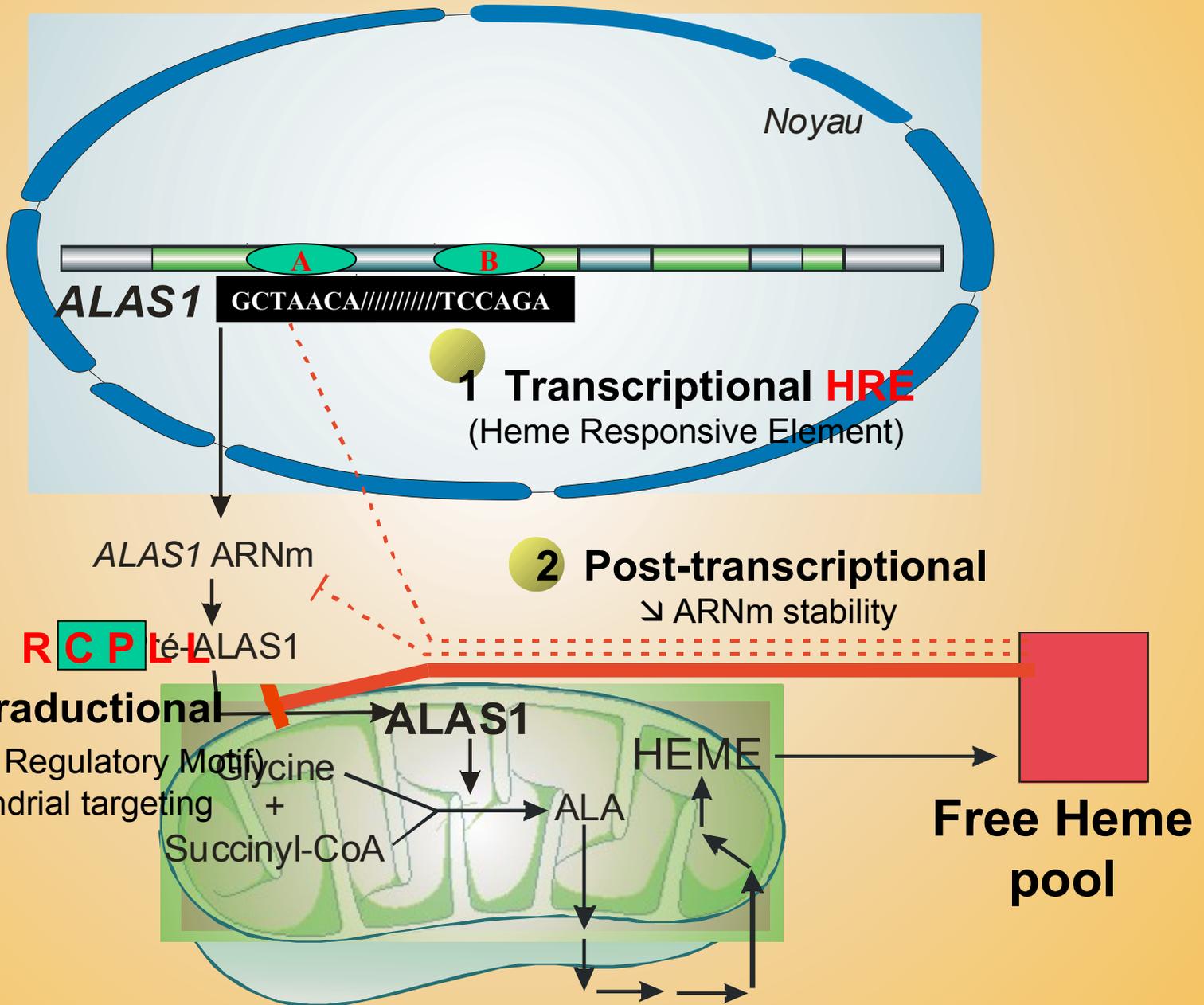
Déficit enzymatique partiel dans la synthèse de l'hème



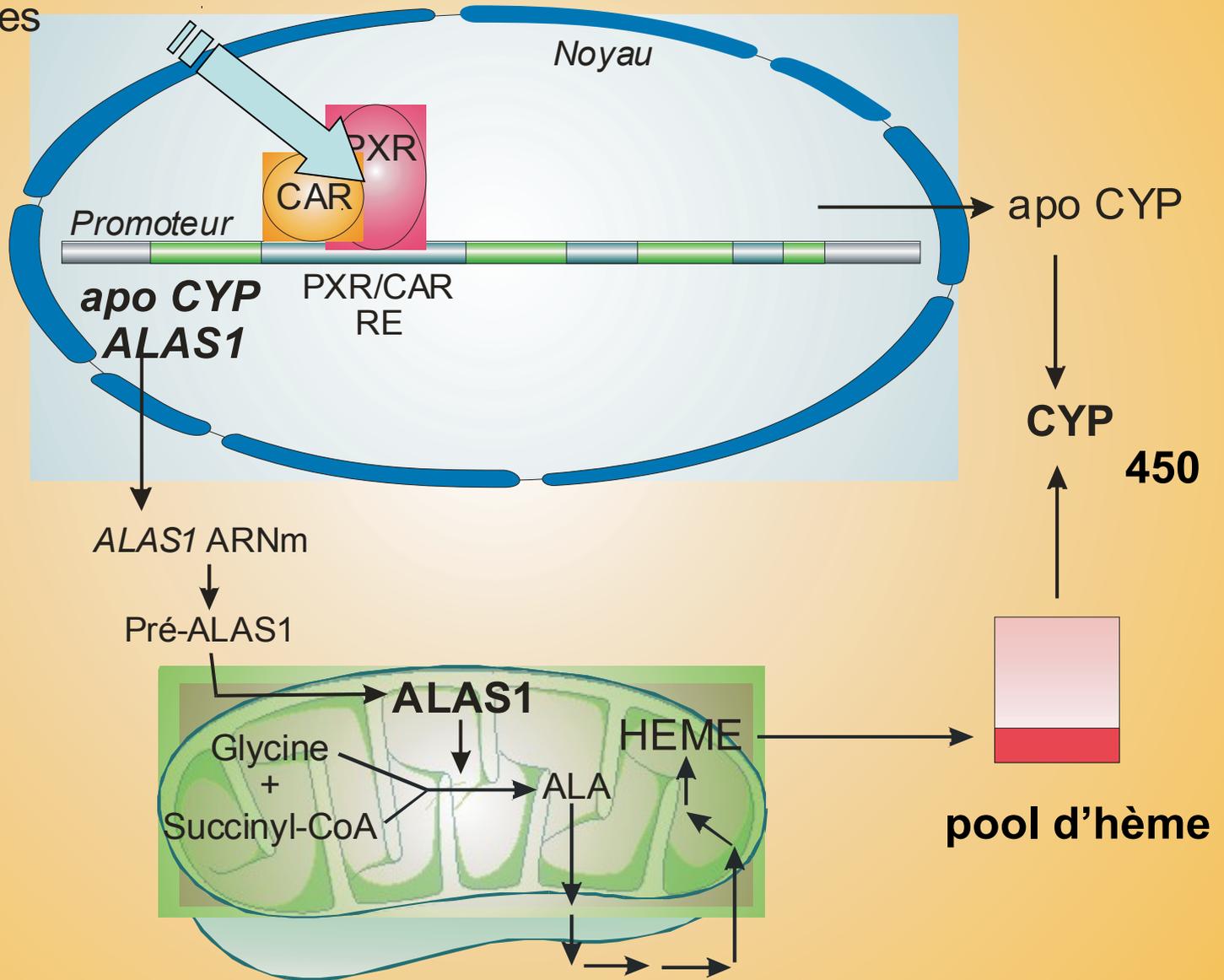
Le flux de synthèse d'hème hépatique



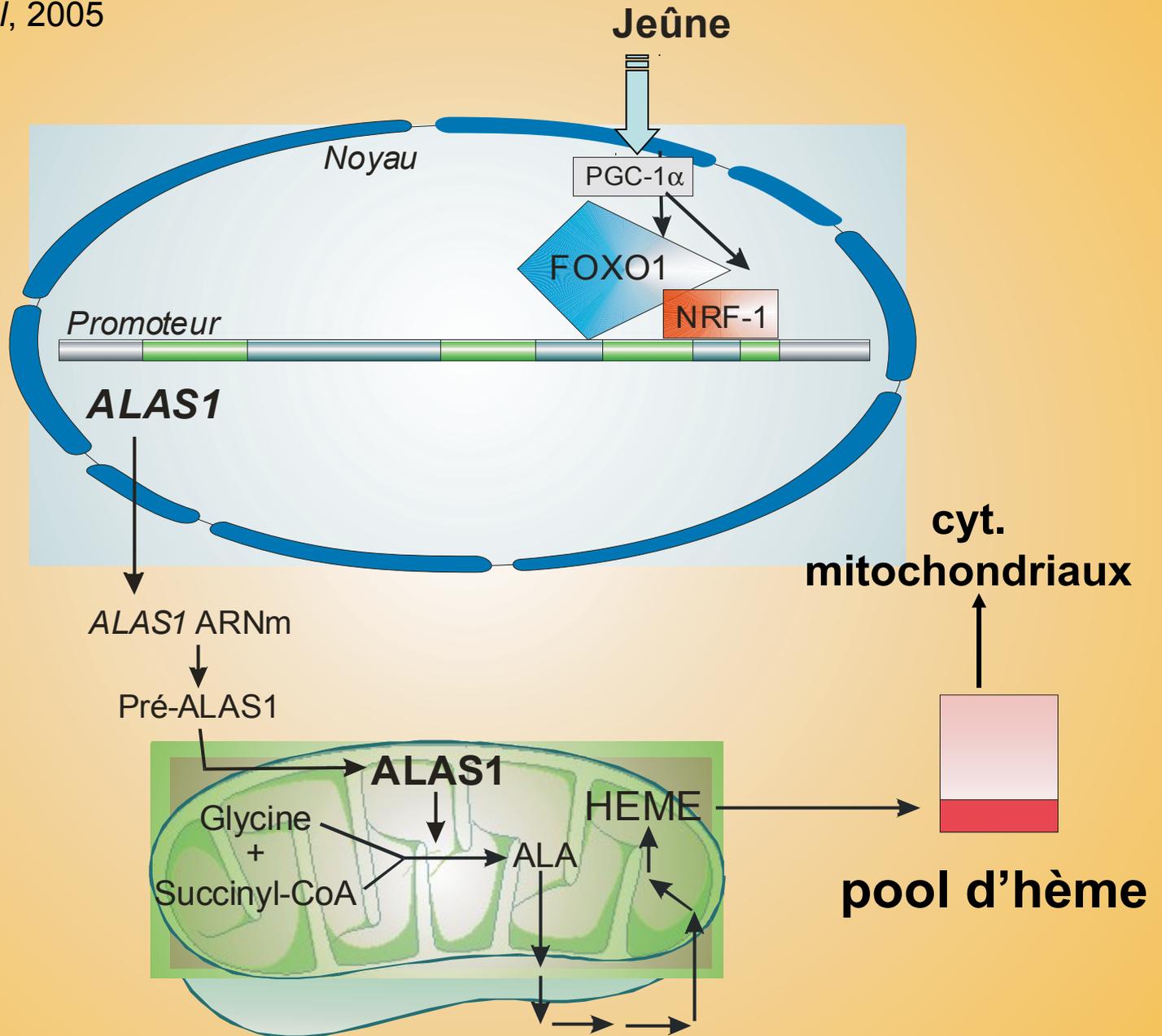
Steady State Inhibition of ALAS1



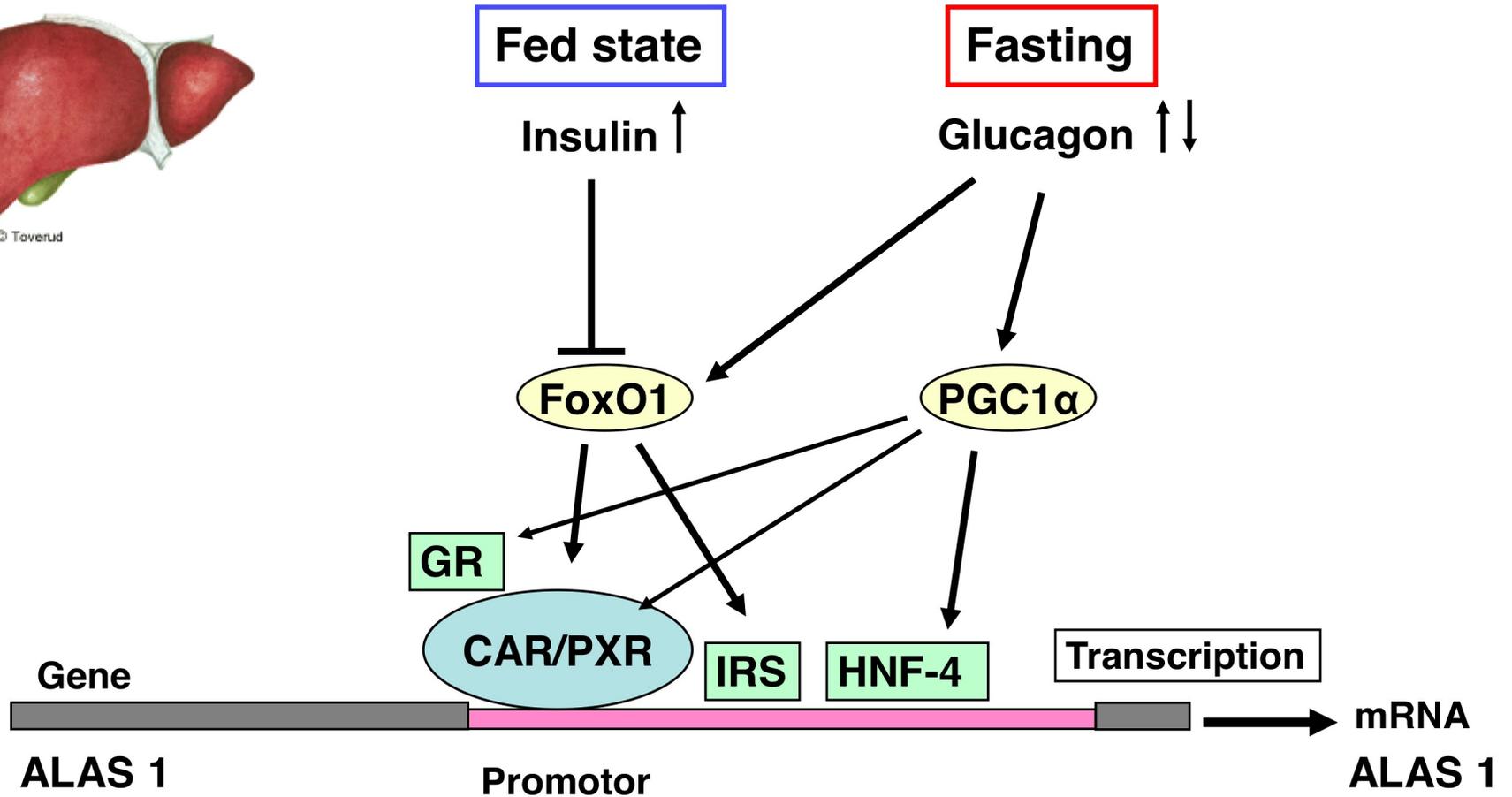
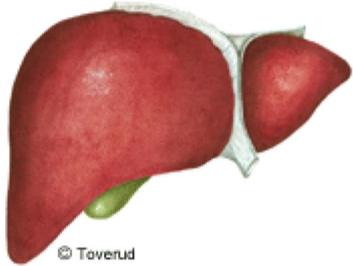
Médicaments lipophiles
Hormones stéroïdes
Solvants
Pesticides



Cytosol



Hepatic Energy Metabolism



Physiopathologie de la crise aiguë

1/ Déficit enzymatique 50% dans tous les tissus

2/ Emballement d'ALAS1 hépatique

médicaments lipophiles, hormones stéroïdes

- diminution du pool d'hème libre (levée d'inhibition de l'hème) pour la synthèse des cyt. P450
- activation directe de l'expression d'ALAS1 (CAR/PXR)

jeûne

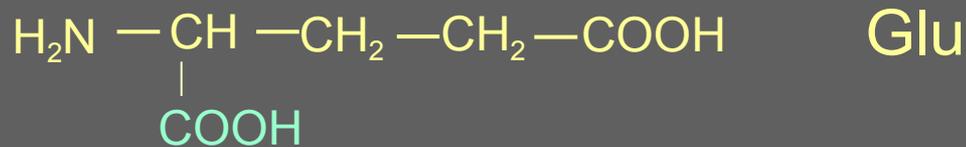
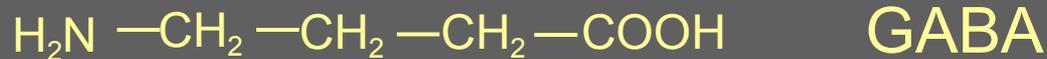
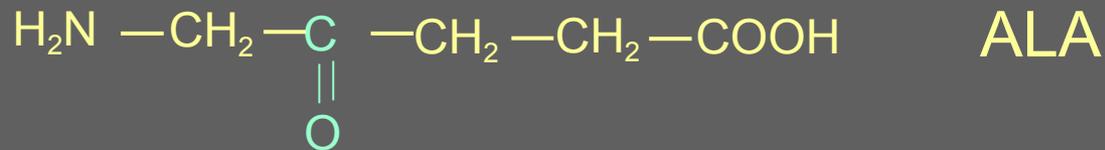
activation directe de l'expression d'ALAS1 (PGC1- α)

infection, stress, inflammation

- activation directe de l'expression d'ALAS1 (FOXO-1 et HNF4))
- hypercatabolisme de l'hème par HO-1

Conséquences cliniques de la déplétion du pool d'hème et de l'emballement d'ALAS1

✂ Surproduction hépatique d'acide δ -aminolévulinique et/ou manque d'hème \rightarrow neuropathies



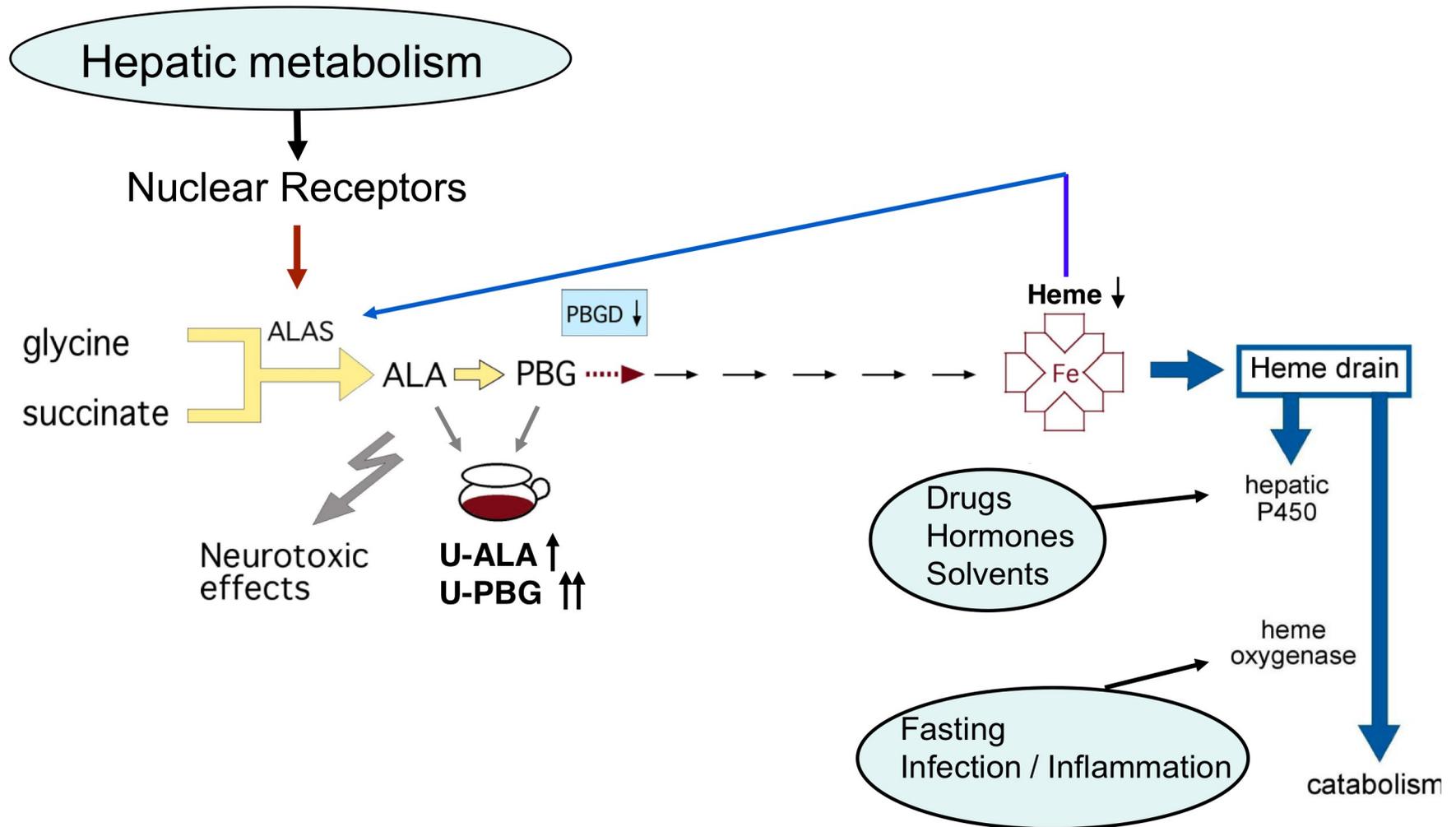
✂ Surproduction hépatique de porphyrines

\rightarrow lésions cutanées

induites par le rayonnement solaire (photosensibilité),

dues à l'accumulation de porphyrines dans la peau (sauf la PAI)

AIP – from latent to active phase



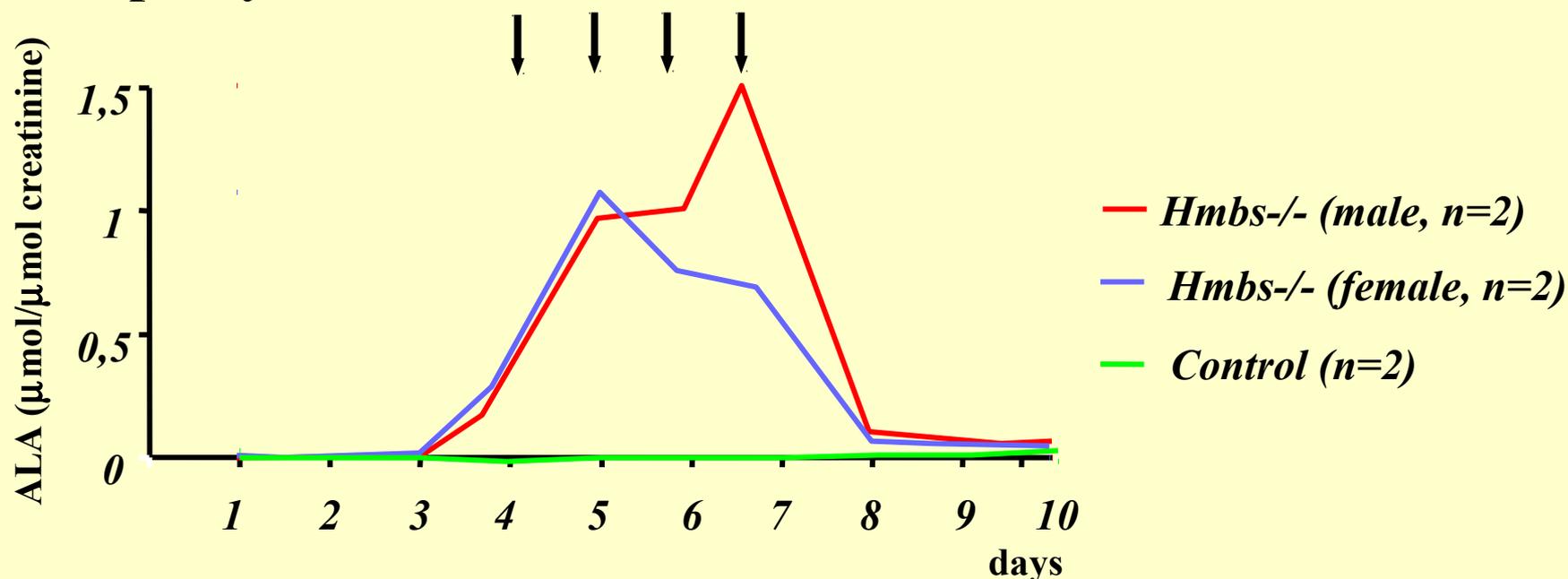
Animal model of AIP: « Vincent », *Hmbs*-deficient mice

Double-knockout mice, C57BL/6

Vincent
Lindberg *et al*, 1996



- Biochemical characteristics similar to AIP patients
 - *Hmbs* residual activity : 30%
 - massive overproduction and urinary excretion of ALA after phenobarbital treatment
- No neurovisceral symptoms although aged mice exhibit neuropathy



Rationale for Domino Transplantation in AIP

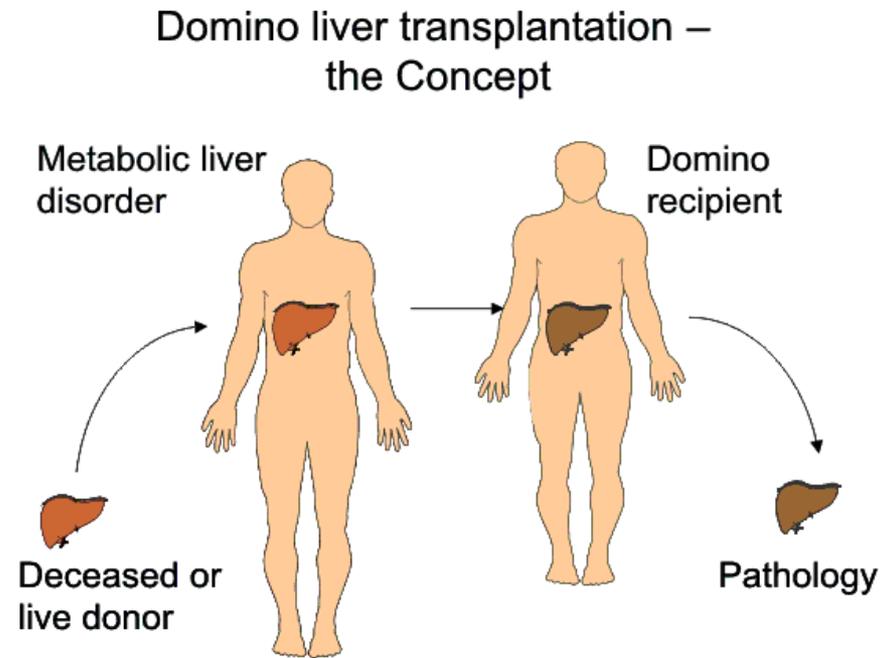
- Liver in AIP functionally normal except for enzyme defect
- AIP symptoms much more common in pre-menopausal females

Hypothesis:

Livers from young females with AIP could be safely domino-transplanted into older males with little/no risk of them developing clinical porphyria

Domino Liver Transplantation (DLT)

- Liver removed from one patient and transplanted into another
- **Novel approach in porphyria**
- Benefits include:
 - Increased donor liver availability
 - Short cold ischaemic time
- Worldwide ~ 60 DLTs performed / yr
- Recipients usually ‘marginal’ – no longer eligible to receive organ using standard criteria

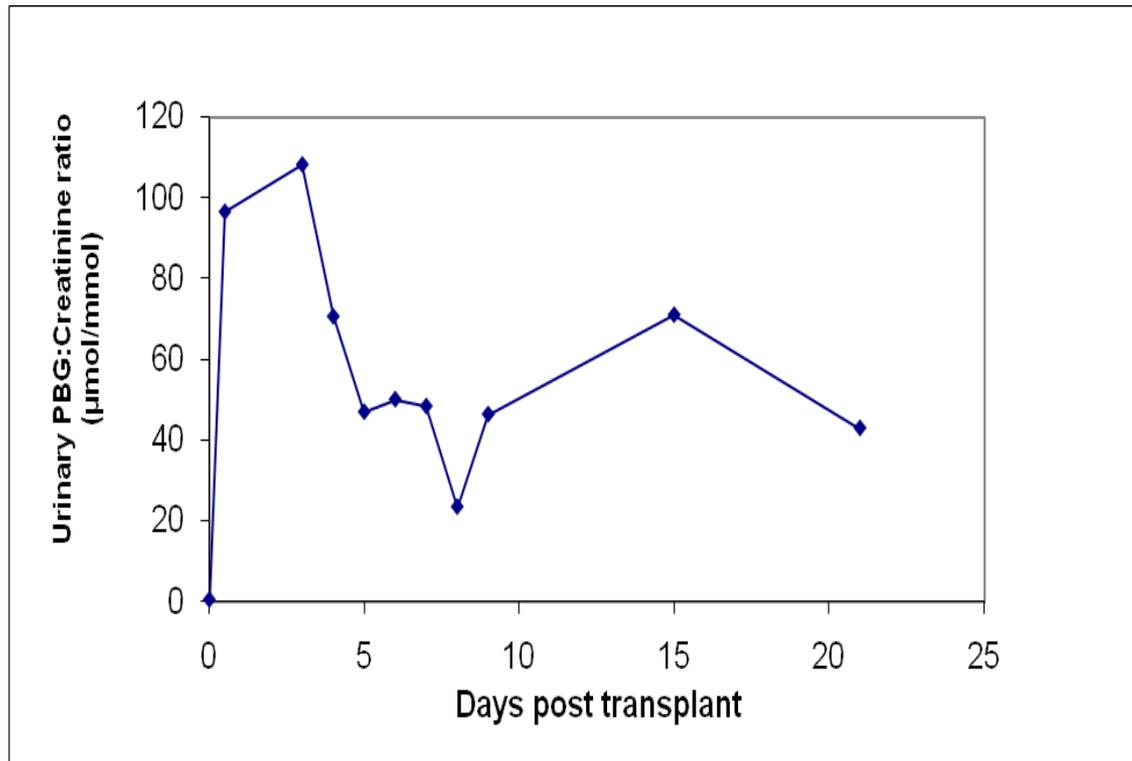


DLT experience

- **3 domino liver transplants performed in setting of AIP**
- **Female AIP liver donors aged 26, 30 and 43 yrs**
- **Recipients all male > 40yrs with hepatocellular carcinoma outwith standard transplant criteria**
- **Recipients had explicitly consented to receiving a domino liver in the knowledge they could develop AIP**

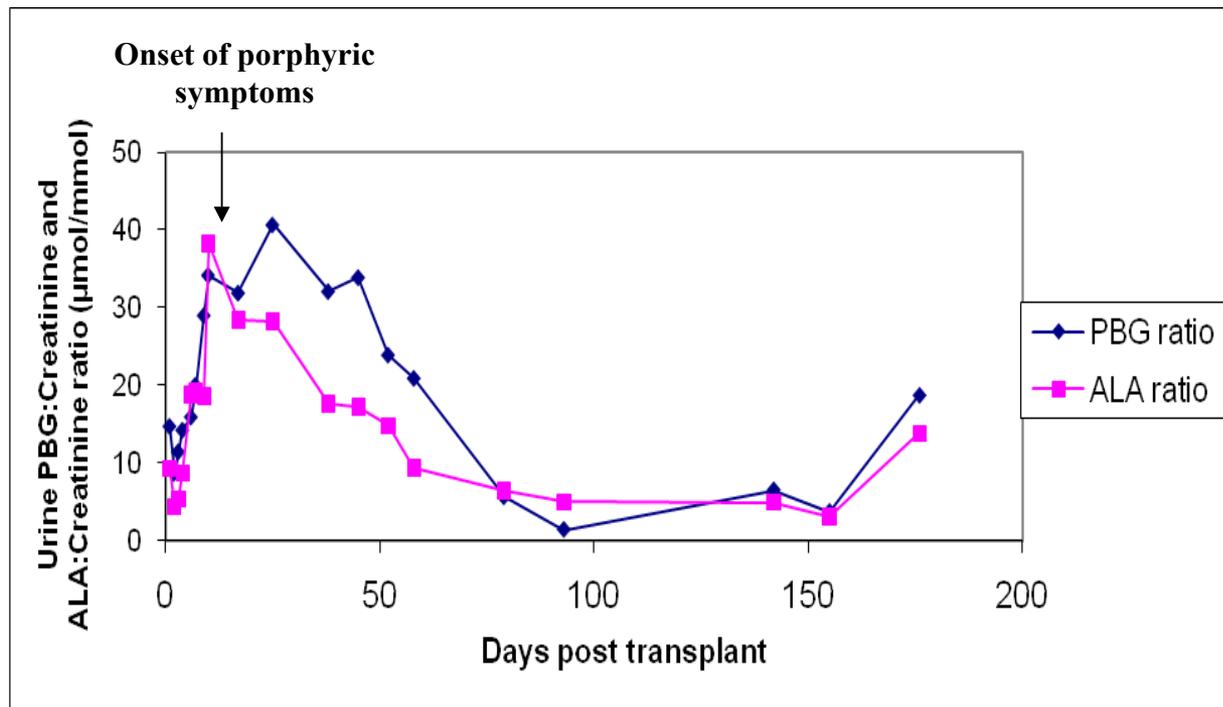
Outcome of DLT in AIP Case 1 (2006)

- Death of 65-yr old recipient at 32 days from sepsis/biliary complications
- ↑ PBG levels and evidence of neuropathy



Outcome of DLT in AIP Case 2 (2009)

- 43-yr old recipient alive at 23months
- Porphyric symptoms (abdominal pain) within 3/52 post-transplant
- Neuropathy within 3/12 despite regular prophylactic haemarginate
- Symptoms persist in association with \uparrow PBG/ALA excretion



Outcome of DLT in AIP

Case 3 (2010)

- **60-yr old recipient died <24hrs post-transplant from MI, 2° to profound intra-operative blood loss + graft dysfunction**
- **Possible contribution of severe graft siderosis**

Insights into AIP pathogenesis

- **AIP liver not favourably affected by change in environment & remains neurotoxic when transplanted into recipient without porphyria.**
- **Suggests acute attacks solely due to production of neurotoxin by PBG-deaminase deficient liver and excludes role of relative neuronal haem deficiency**
- **Consistent with murine AIP model where hepatocyte PBG-deaminase overexpression reduced porphyrin precursor production and almost completely abolished motor disturbance**
(Unzu *et al.* J Hepatol 2010)

**Important implications for future treatment strategies
which need only therefore be liver-focused**

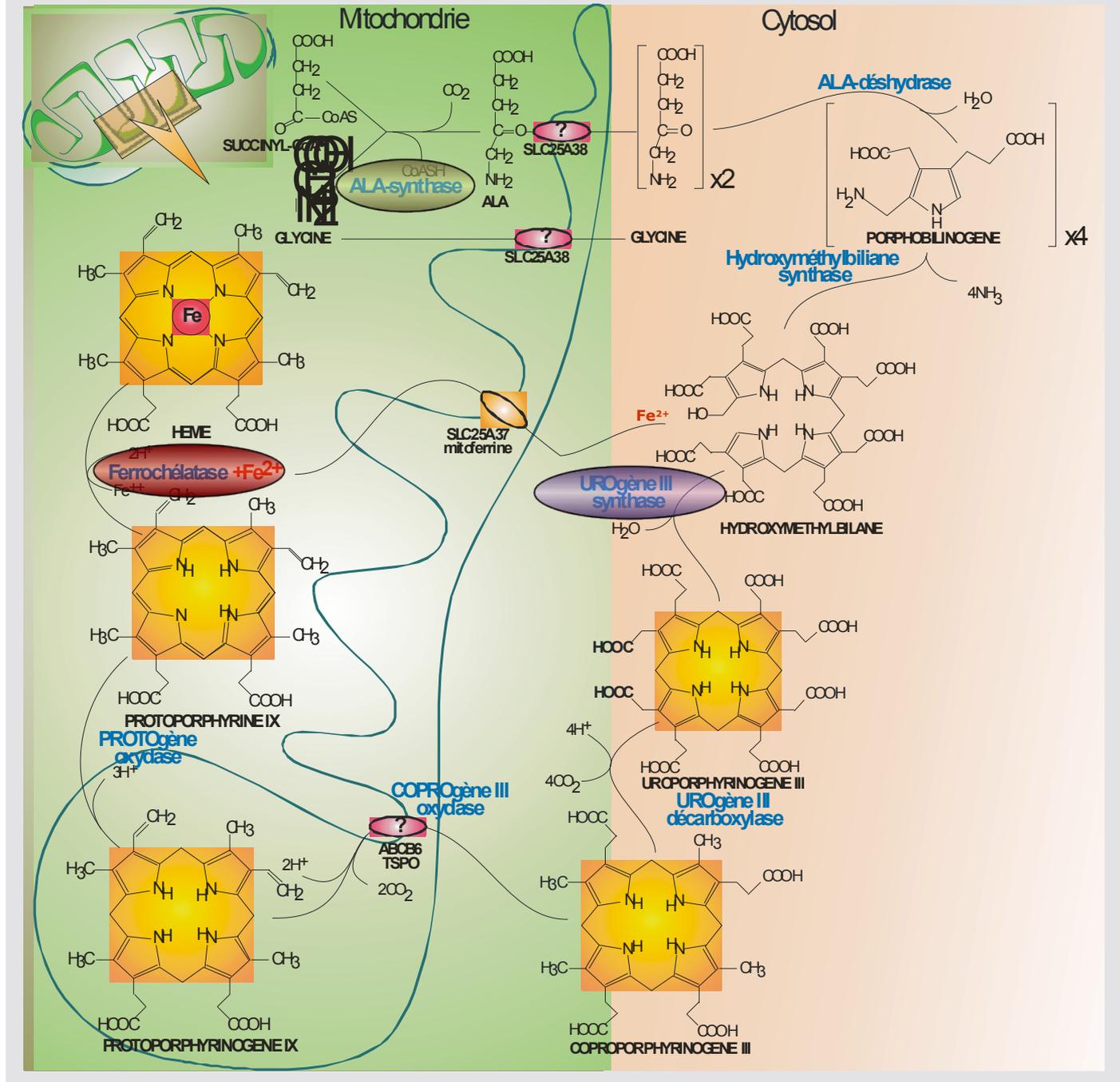
Porphyries Erythropoïétiques

Pathologies érythroïdes de la biosynthèse de l'hème :

PEC
 Porphyrie érythropoïétique congénitale –
 Maladie de Günther

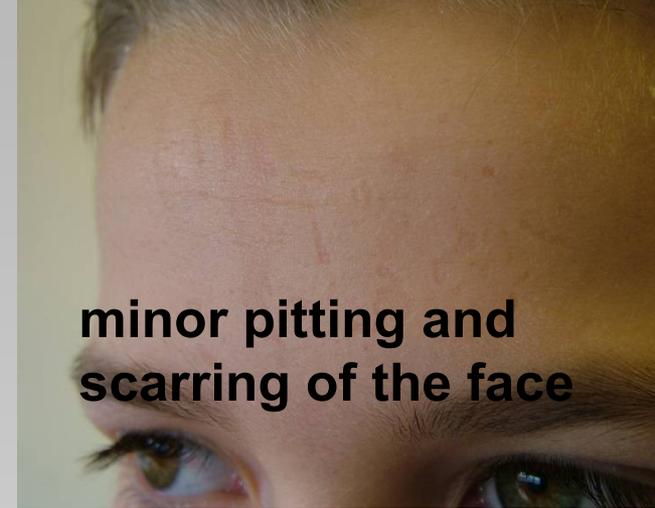
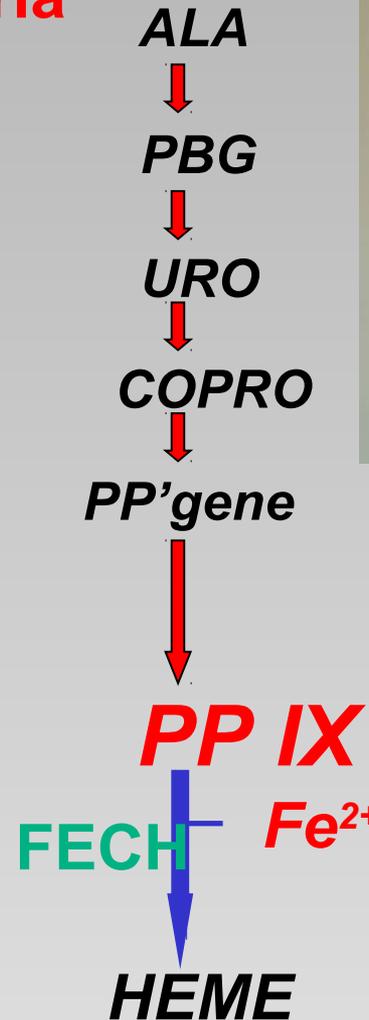
PPE
 Protoporphyrine érythropoïétique

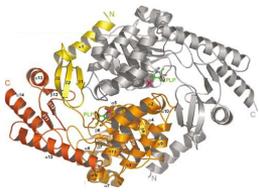
XLDPP
 Protoporphyrine liée à l'X



Erythropoietic Protoporphyrria (EPP)

- **Painful Photosensitivity +++**
 - early onset (<5 years)
 - intense burning sensation at sun exposure
 - **very few visual symptoms**
- **Hepatic complications**
 - Gallstones (PPIX)
 - Pathophysiology :
 - **BM PPIX overproduction**
 - excreted **ONLY** by the liver into the bile
- **Mild microcytic anemia**





La protoporphyrie érythropoïétique - PPE (2)

○ Traitements

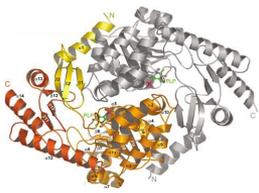
- Éviction solaire et photoprotection (β -carotènes)
- Afamelanotide : analogue de l' α -MSH
(Clinuvel, étude en cours CFP et EPNET)
- Transplantation hépatique (<2% des patients)
 - +/- greffe de moelle

○ Génétique de la PPE

- Forme récessive (4%) +/- kératodermie palmaire saisonnière
- Forme à effet de seuil (96%)



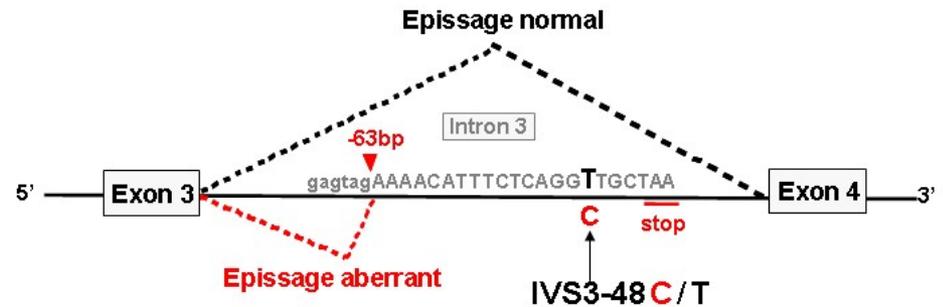
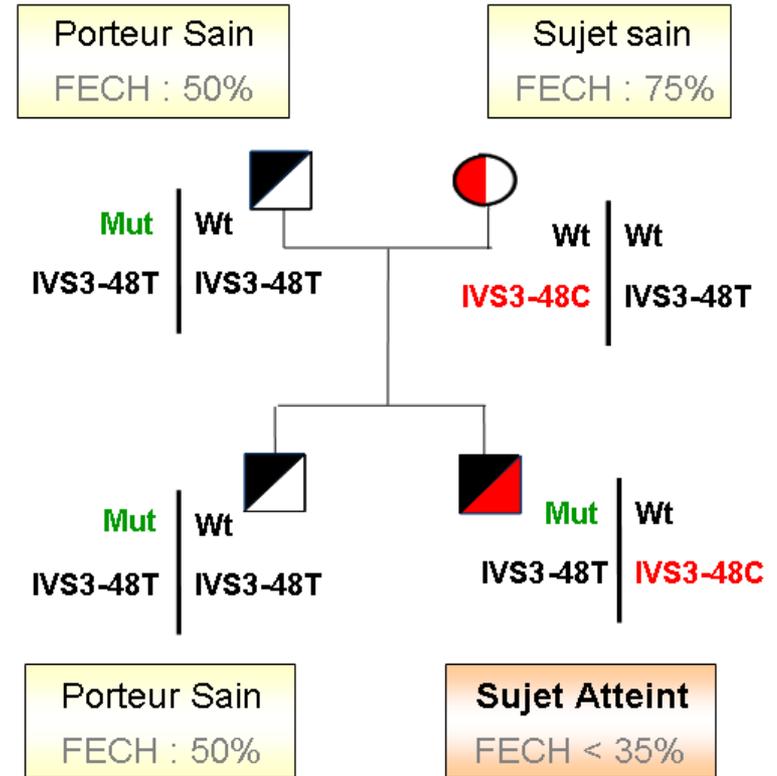
Holmes 2006

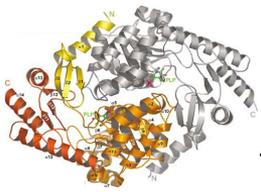


La protoporphyrie érythropoïétique - PPE (3)

Cotransmission d'une mutation privée délétère **en trans** de l'allèle commun hypomorphe IVS3-48C

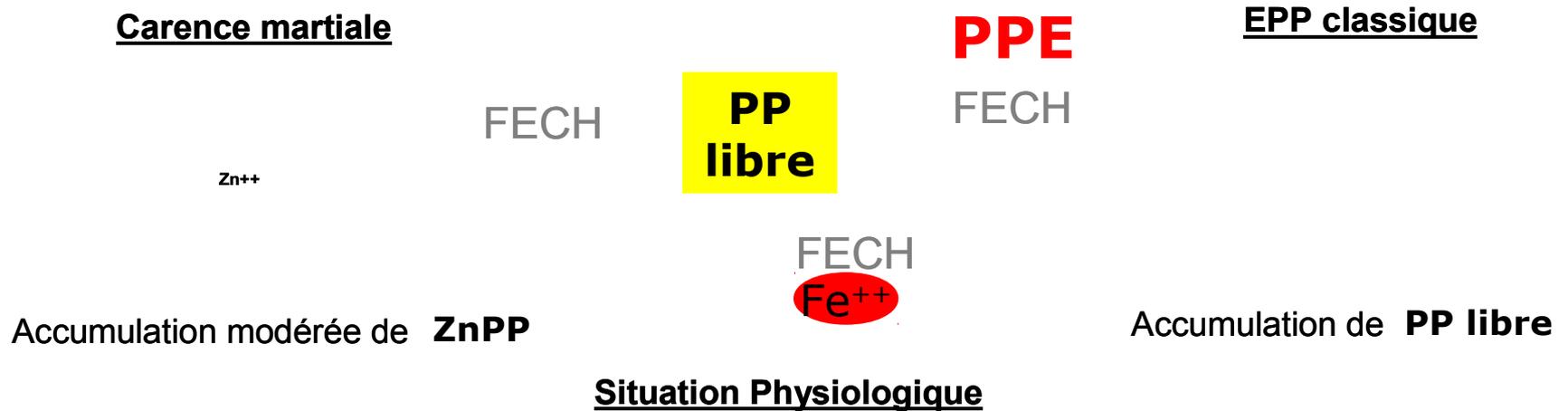
Population	Fréquence allélique	
	C	T
Pima	0.63	0.37
Japonaise	0.42	0.58
Caucasienne	0.11	0.89
Africaine	0.004	0.996



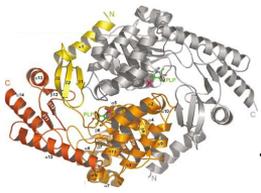


L'enzyme ferrochelatase - FECH (1)

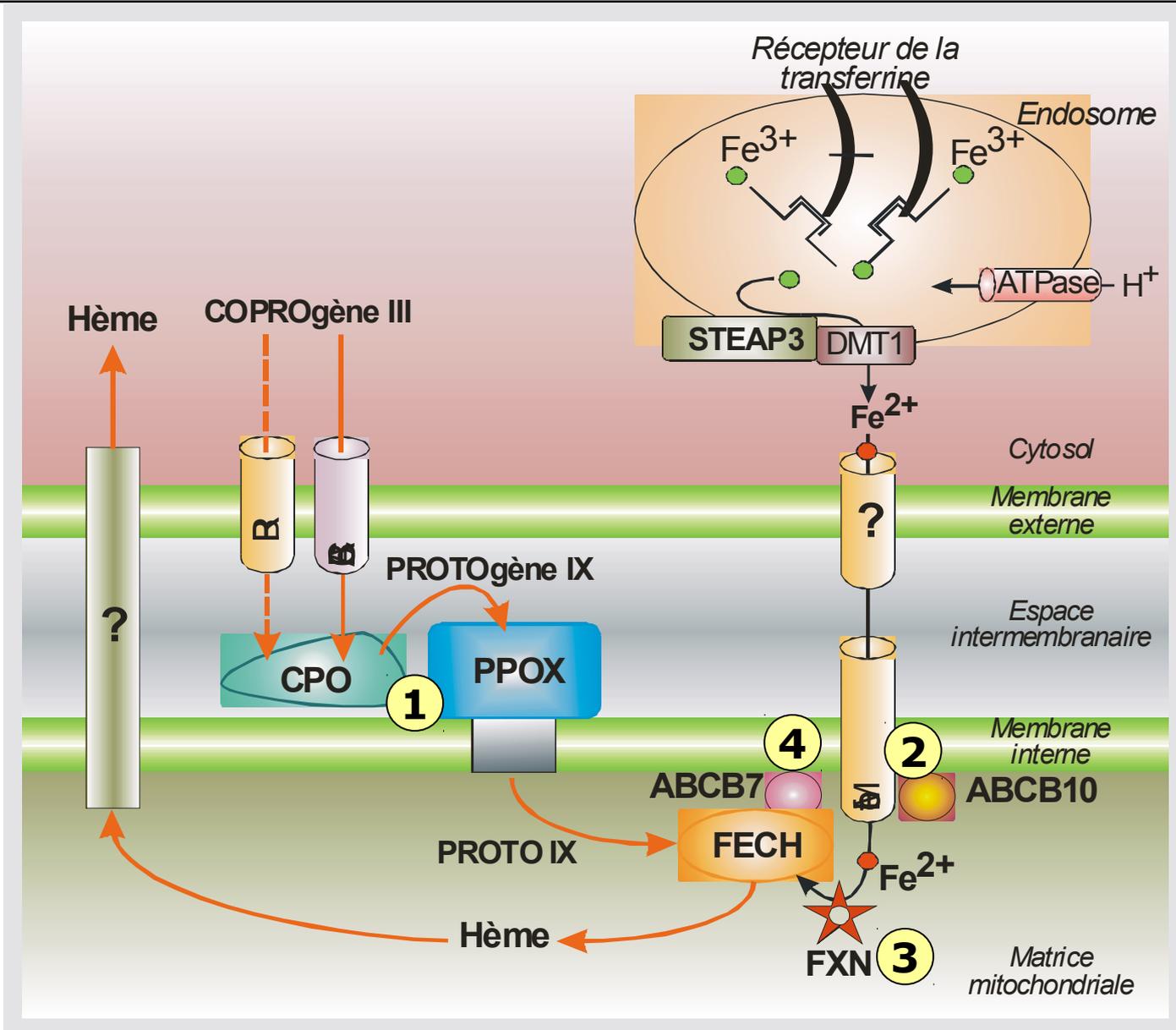
- Fe^{2+} n'est pas le seul substrat de la FECH
 - Effet inhibiteur Zn^{2+} , Pb^{2+} (saturnisme)



Production d'hème



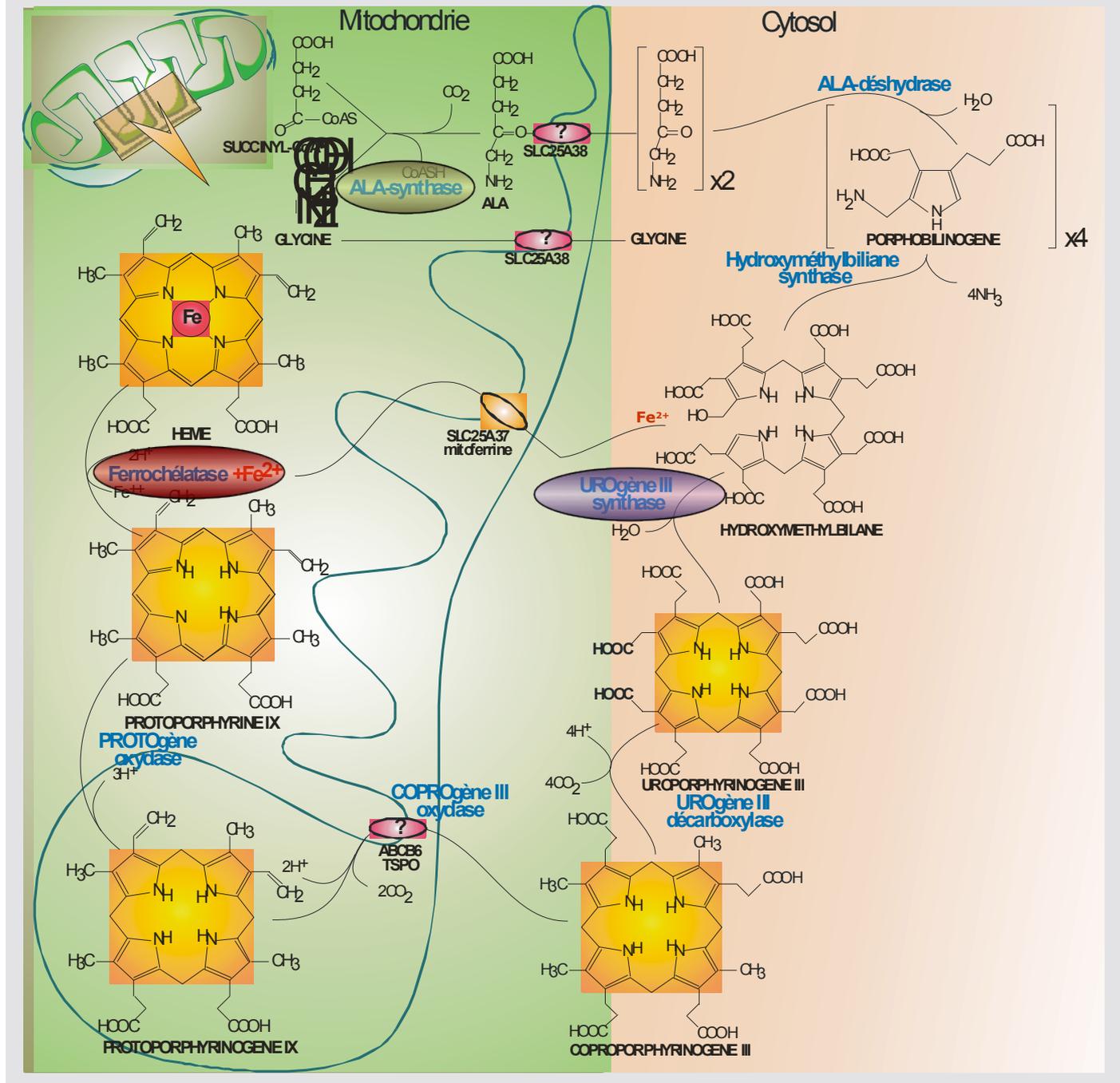
L'enzyme ferrochélatase - FECH (2)



XLSA
Anémie
sidéroblastique
liée à l'X

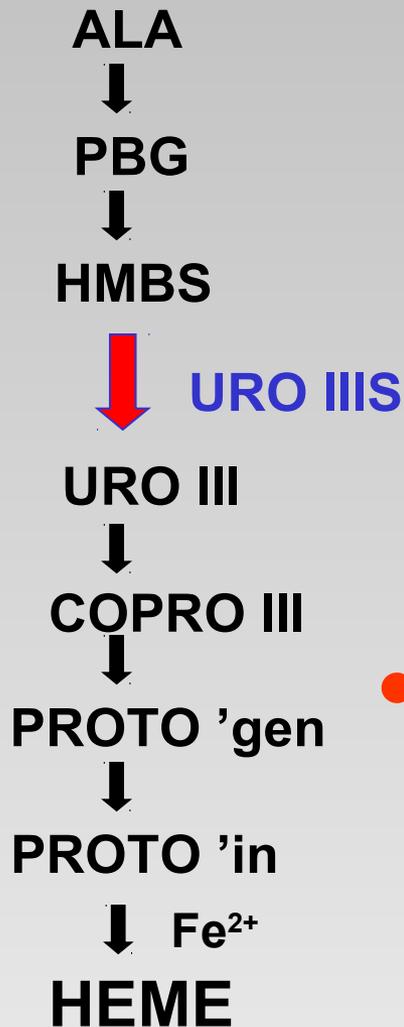
PEC
Porphyrie
érythropoïétique
congénitale –
Maladie de Günther

PPE
Protoporphyrine
érythropoïétique



Congenital Erythropoietic Porphyria

(CEP, *Günther's disease*)



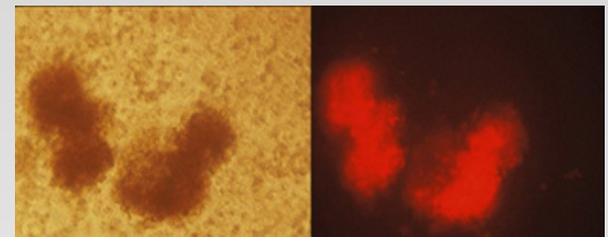
- **Clinical manifestations**

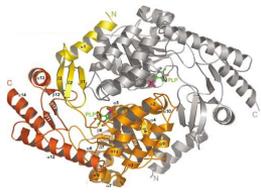
- Severe photosensitivity
- Erythrodontia
- Reddish-coloured urine
- Splenomegaly

- **Autosomal recessive**

- **Hematological features**

- **Chronic hemolysis**
- **Mild to severe anaemia**
- **Fluorescent blood cells**
- **Massive Bone marrow porphyrin overproduction**
(*Uro, Copro, isomers I*)

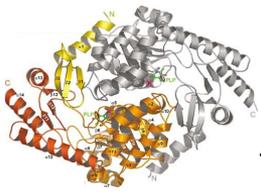




La porphyrie érythropoïétique congénitale - PEC (1)

- 150 cas référencés
- Déficit en UROS (~10%)
 - Accumulation URO I et COPRO I
- Signes cliniques souvent sévères
 - Photomutilation
 - Anémie hémolytique chronique
 - Hyper- ou hypo-pigmentation, érythrodontie, hypertrichose
- Greffe de moelle : donneur compatible
- Thérapie génique (CHU Bordeaux) : autogreffe de cellules souches génétiquement modifiées

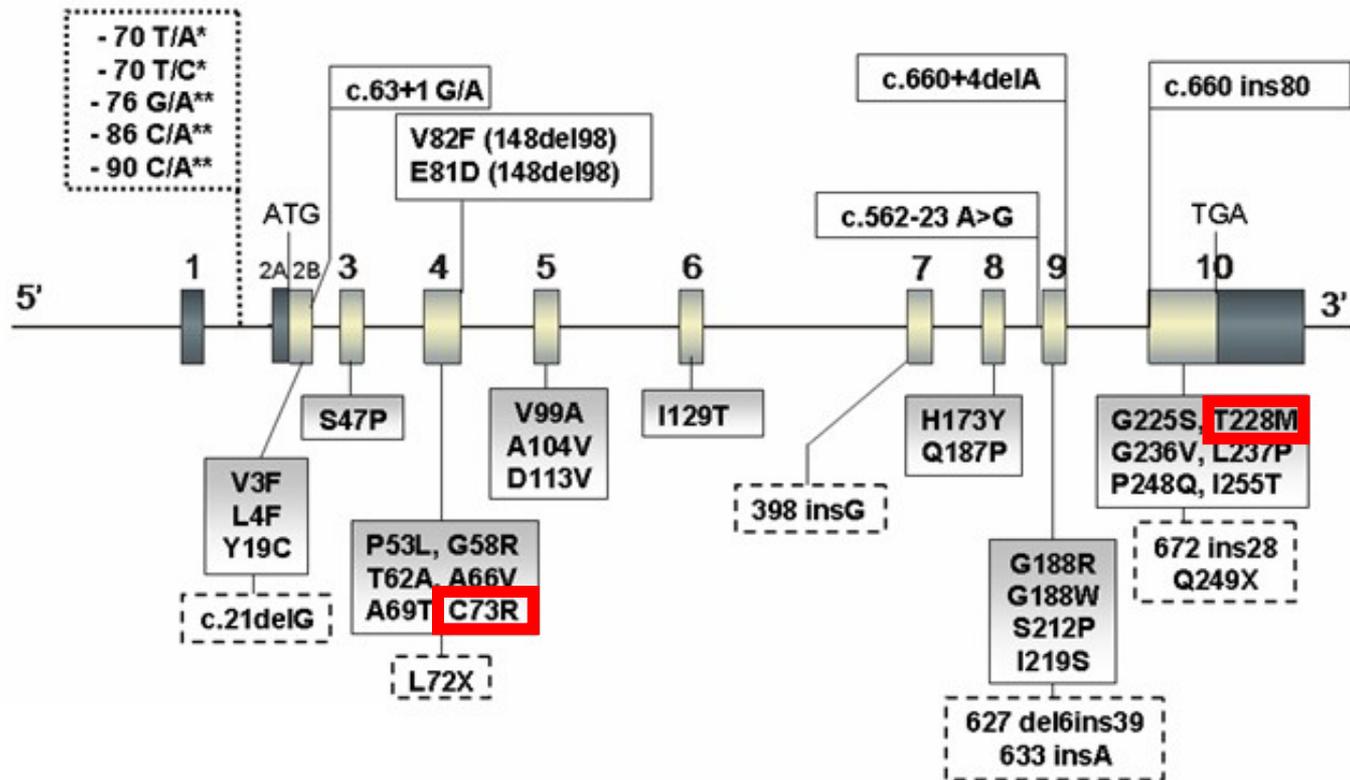


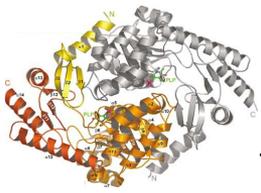


La porphyrie érythropoïétique congénitale - PEC (2)

○ Transmission autosomique récessive

- Hétérozygotes composites
- p.C73R (30%) et p.T228M (8%)

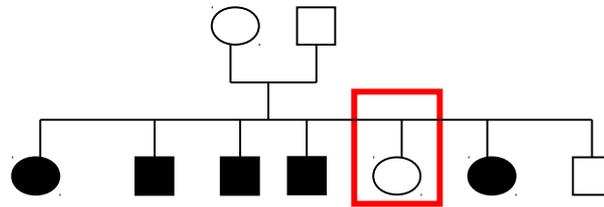




La porphyrie érythropoïétique congénitale - PEC (3)

○ Expressivité variable

- Formes sévères à bénignes
- Corrélation phénotype – génotype
 - *Ged et al., 2004* : 1 porteuse asymptomatique / 5 patients



UROS : p.S47P/p.S47P
Déficit enzymatique

- *To-Figueras et al., 2007* : 2 patients p.C73R/p.P248Q

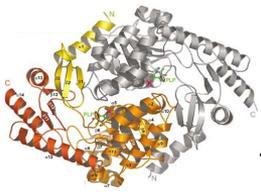
MILD PHENOTY PE



SEVERE PHENOTYPE



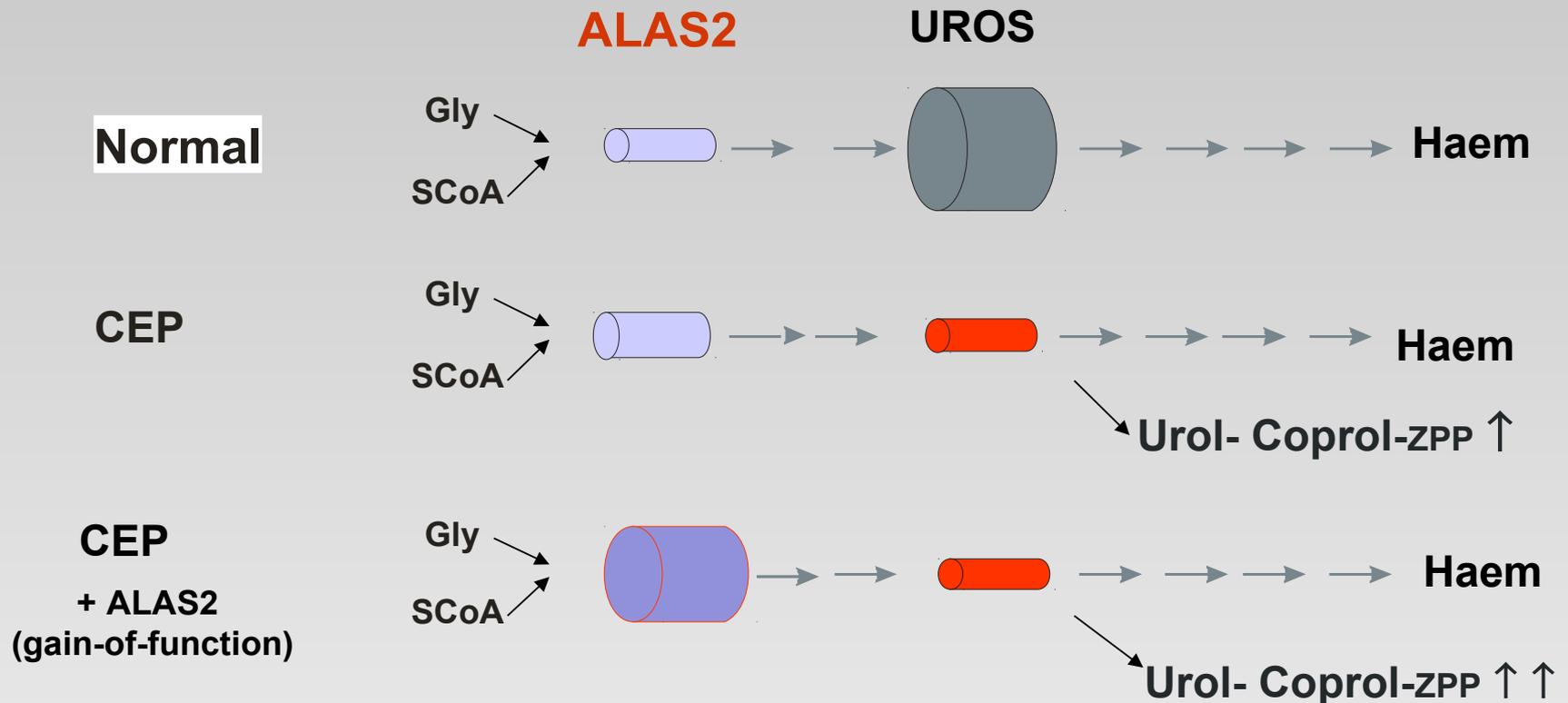
To-Figueras, 2007



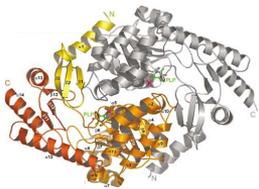
La porphyrie érythropoïétique congénitale - PEC (4)

- PEC et β -thalassémie : mutation du gène *GATA1*
 - *Phillips et al., 2007*
 - Absence de mutation dans les gènes α ou β -globine
 - Absence de mutation du gène *UROS*
 - *GATA1* : c.646C>T p.R216W
 - *Brancaleoni et al., 2011* : digénisme *UROS/GATA1*
 - Mutation *UROS* c.338A>T p.D113V
 - Mutation *GATA1* c.646C>T p.R216W
- Gènes modificateurs / facteurs environnementaux

ALAS2 gain of function mutation may act as a modifier gene in Günther disease

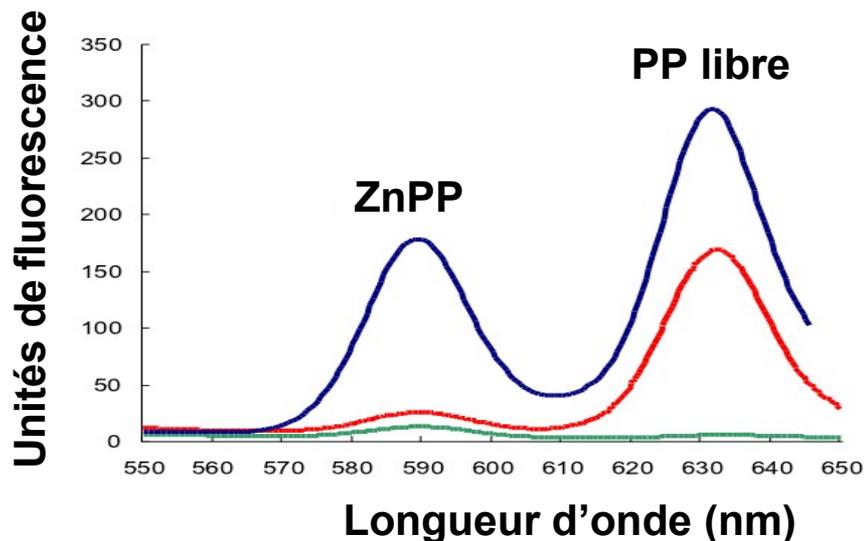


(To-Figueras et al. BLOOD 2011 in press)



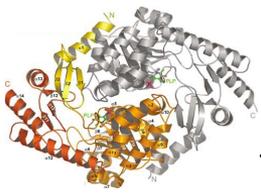
Familles atypiques PPE sans atteinte de la FECH

- 4 familles atypiques / 250 familles PPE françaises
- Activité lymphocytaire FECH normale
- Absence de mutation dans le gène *FECH*
- Absence de l'allèle hypomorphe IVS3-48C



Familles atypiques
PPE classiques
témoins

- Accumulation importante de ZnPP (44% vs 8%)

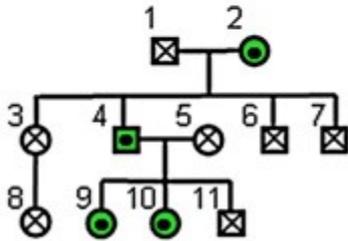


La protoporphyrie érythropoïétique dominante liée à l’X – XLDPP (1)

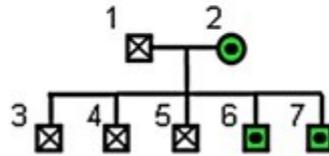


- 8 familles non déficitaires FECH

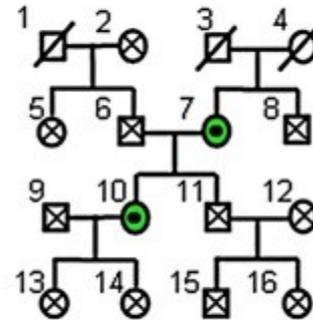
Family A



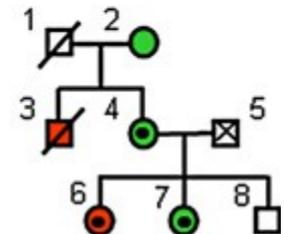
Family B



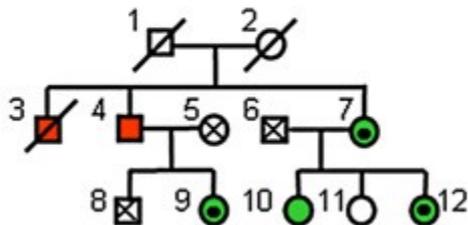
Family C



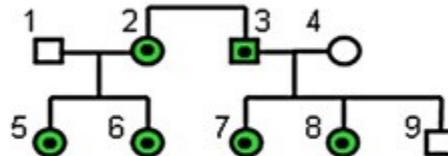
Family D



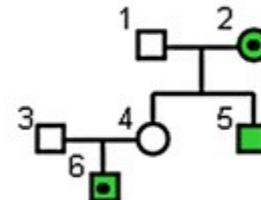
Family E



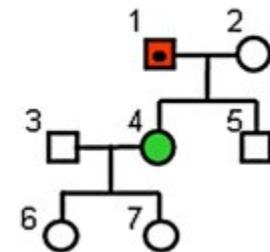
Family F



Family G



Family H





La protoporphyrie érythropoïétique dominante liée à l’X – XLDPP (2)

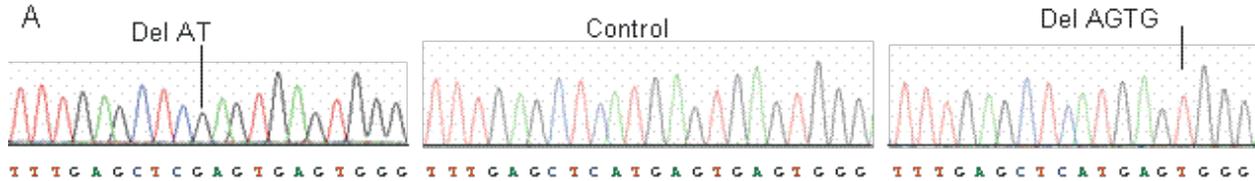
○ 8 familles non déficitaires FECH

Analyse gènes candidats

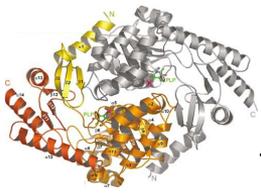
→ ALAS2 (chr. X)
érythroïde spécifique
régulée par le fer

XLSA

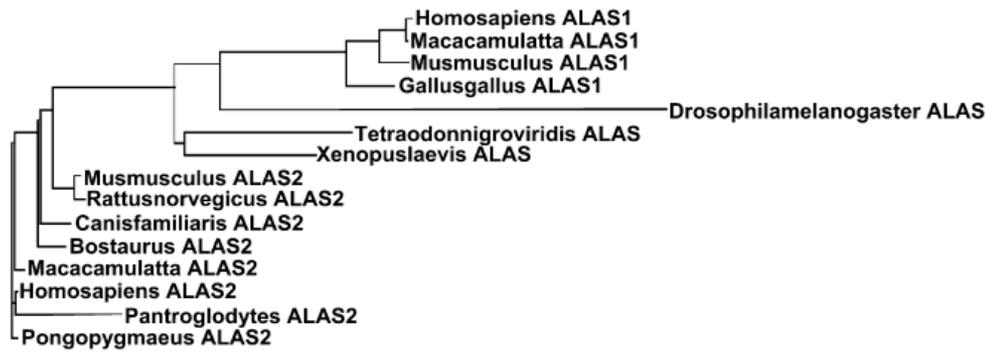
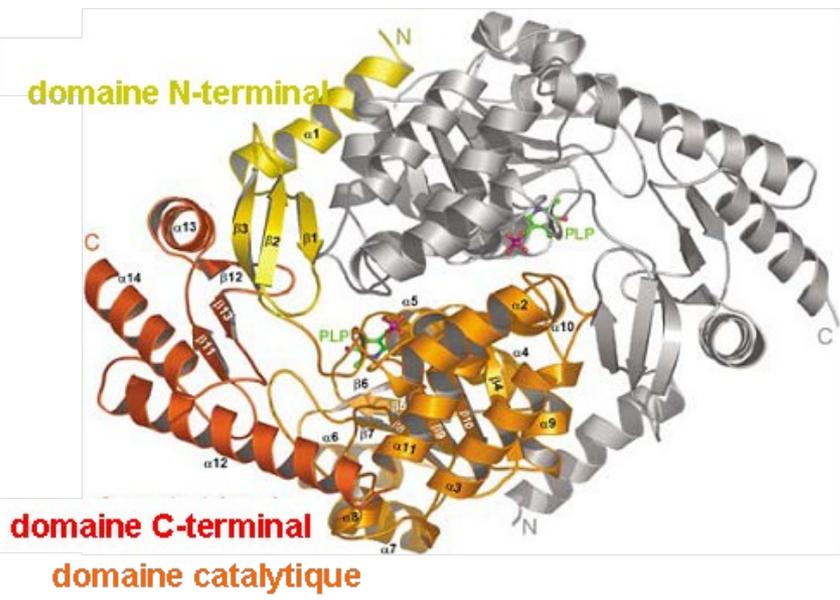
- 6 familles del AGTG
- 2 familles del AT



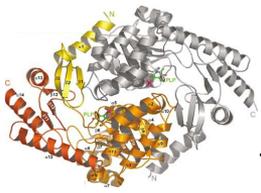
Homo sapiens ALAS2 : VSVAACNFCRRPVHFE L M SEWERSYFGNMGPQYVTTYA -
 del AGTG : VSVAACNFCRRPVHFE L M S **G N V P T S G T W G P S M S P P M P E K P A A** -
 del AT : VSVAACNFCRRPVHFE L **E** -



Le domaine C-terminal de l'enzyme ALAS2 (2)



○ Impliqué dans une régulation érythroïde spécifique ?

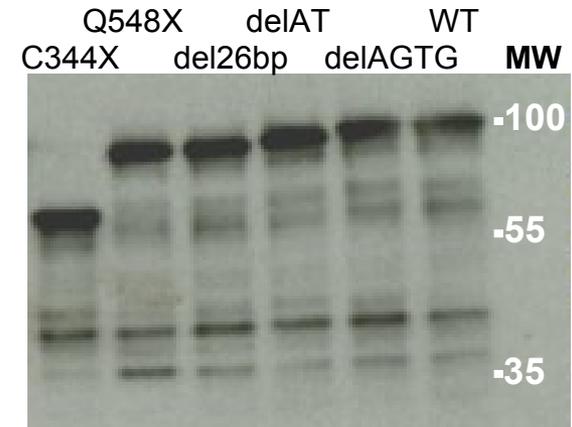
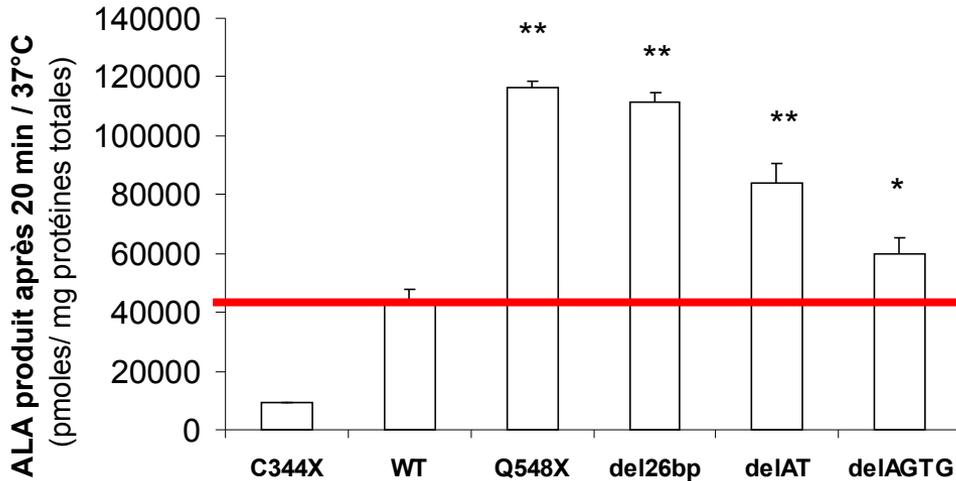


La protoporphyrine érythropoïétique dominante liée à l'X – XLDPP (3)

○ Mécanisme moléculaire : gain de fonction

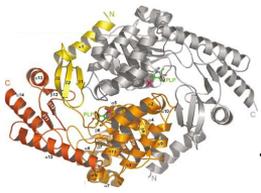
536

hALAS2: LLLAWTAVGLPLQDVSVAACNFCRRPVHFE~~LM~~SEWERSYFGNMGPQYVTTYAX
1642C>T: LLLAWTAVGLPLX
del26bp: LLLAWTAVGLPLQDV**PSCTLX**
delAT: LLLAWTAVGLPLQDVSVAACNFCRRPVHFE**LX**
delAGTG: LLLAWTAVGLPLQDVSVAACNFCRRPVHFE**MSGNVPTSGTWGPSMSPPMPEKPAAX**



○ Une nouvelle porphyrie : la protoporphyrine dominante liée à l'X

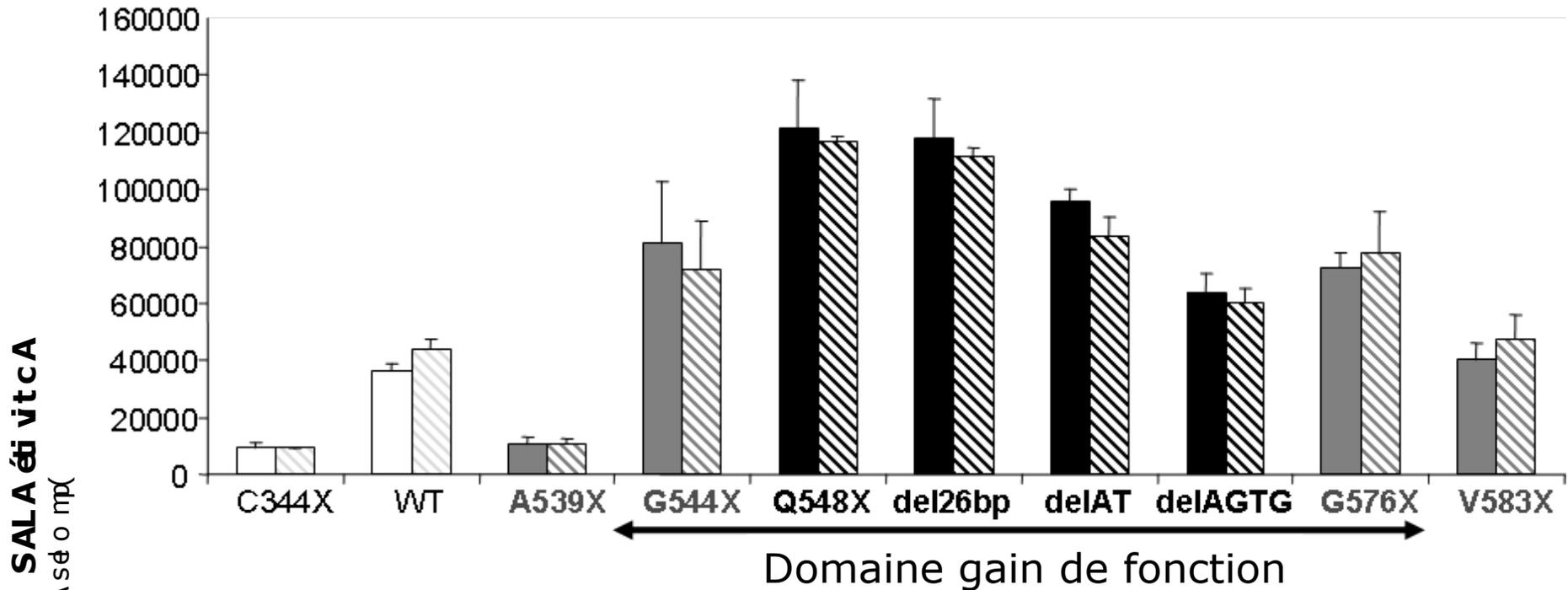
Ducamp, et al., en préparation

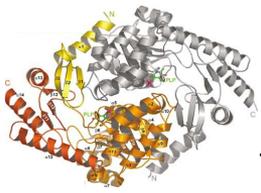


La protoporphyrie érythropoïétique dominante liée à l'X – XLDPP (4)

○ Domaine gain de fonction : quelles limites ?

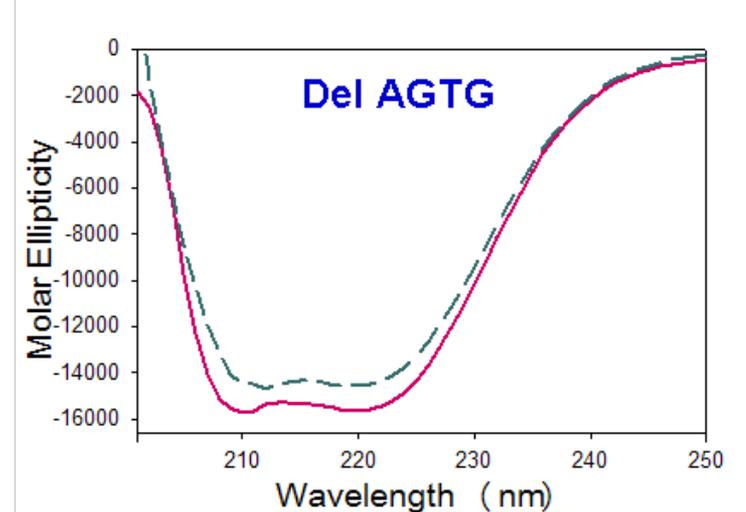
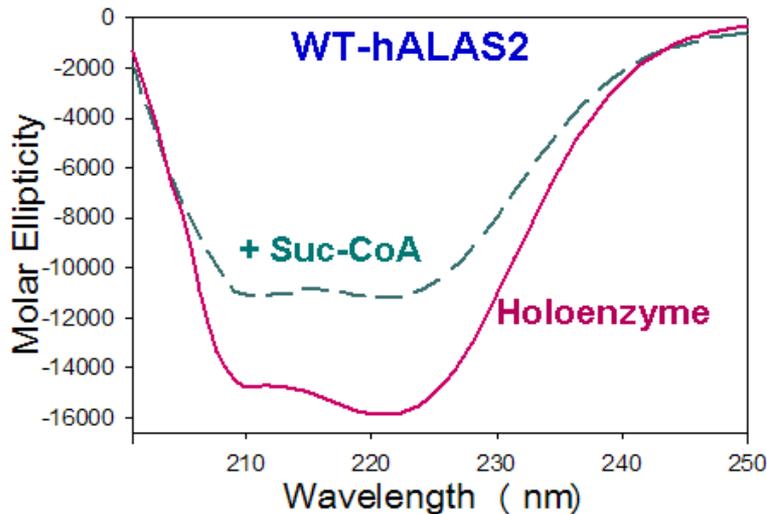
- Mutations XLSA non sens : p.R204X, p.528X (p.Y586fs)
- Mutation XLSA délétion : p.L535del

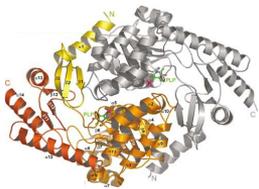




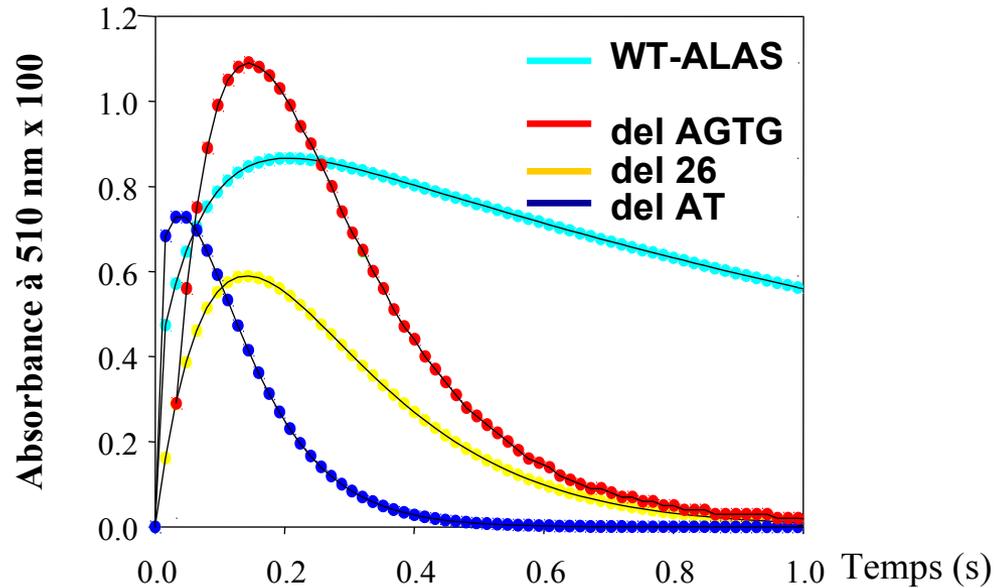
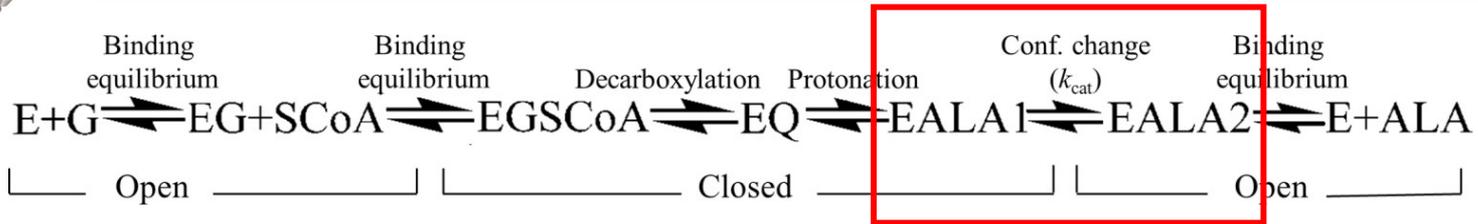
La protoporphyrine érythropoïétique dominante liée à l'X – XLDPP (5)

Enzyme	K_{cat} (s^{-1})	Glycine		Succinyl-CoA	
		K_m (mM)	k_{cat}/K_m ($mM^{-1}s^{-1}$)	K_m (μM)	k_{cat}/K_m ($s^{-1}\mu M^{-1}$)
WT	0.03	15.2	0.001	4.30	0.01
del AT	0.10	10.0	0.010	1.00	0.10
del AGTG	0.11	8.0	0.014	1.20	0.09
del 26	0.09	17.3	0.005	1.20	0.08





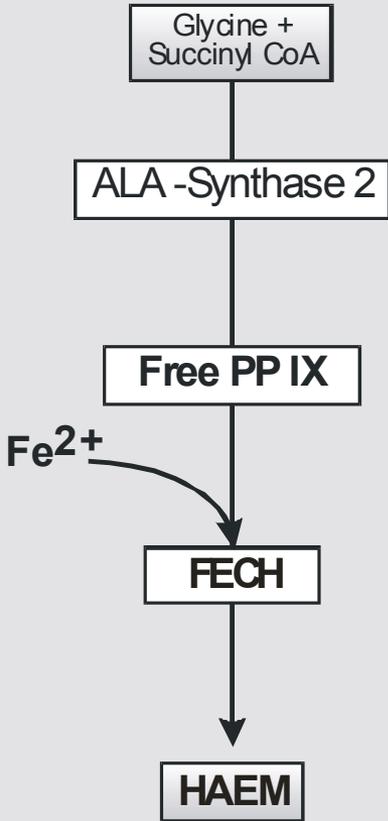
La protoporphyrine érythropoïétique dominante liée à l'X – XLDPP (6)



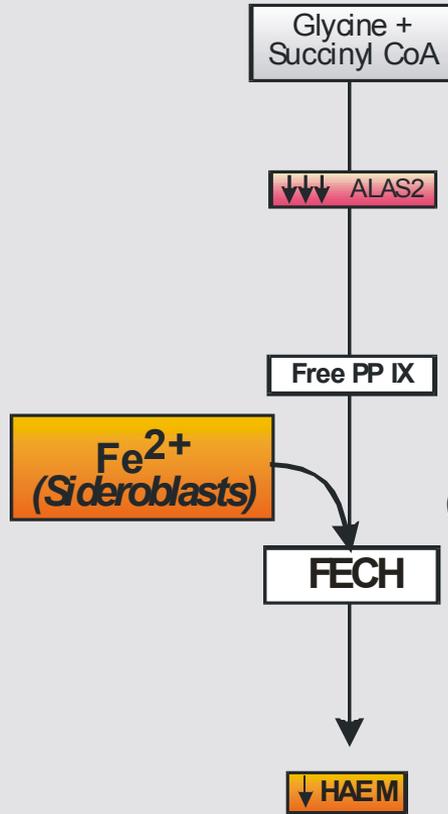
	WT-ALAS (s ⁻¹)	del AT (s ⁻¹)	del AGTG (s ⁻¹)	del 26 (s ⁻¹)
k_{Qf}	13.60 ± 0.90	9.10 ± 1.00	8.50 ± 0.50	10.10 ± 0.50
k_{Qd}	0.70 ± 0.10	8.65 ± 0.40	8.33 ± 0.40	8.90 ± 0.30

Pathophysiology

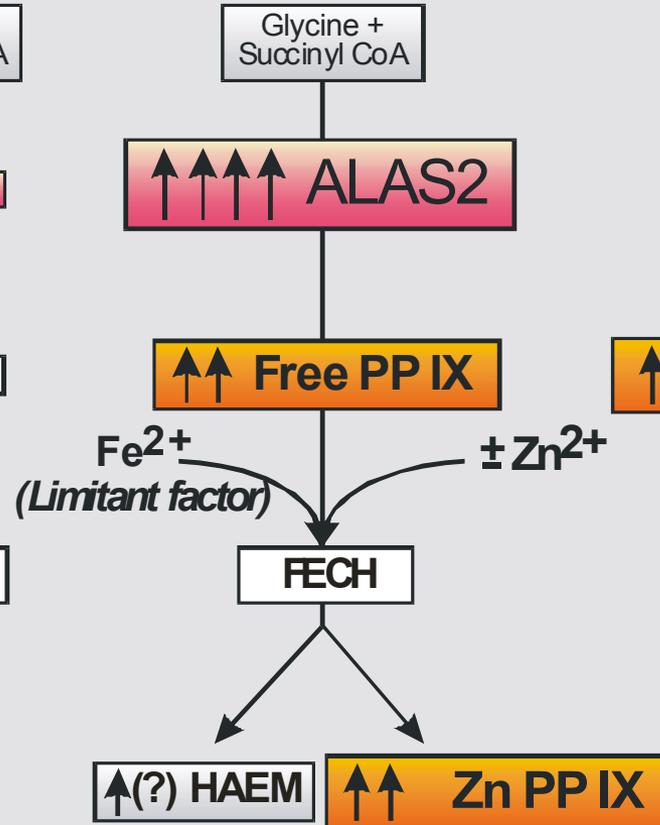
Physiology



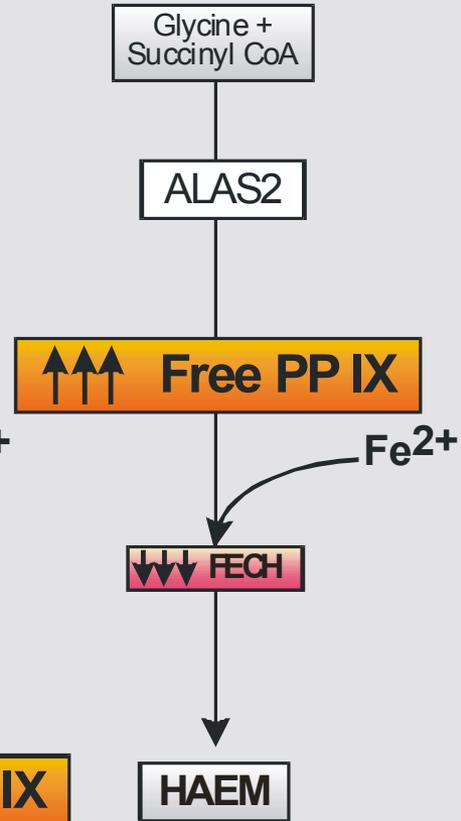
XLSA



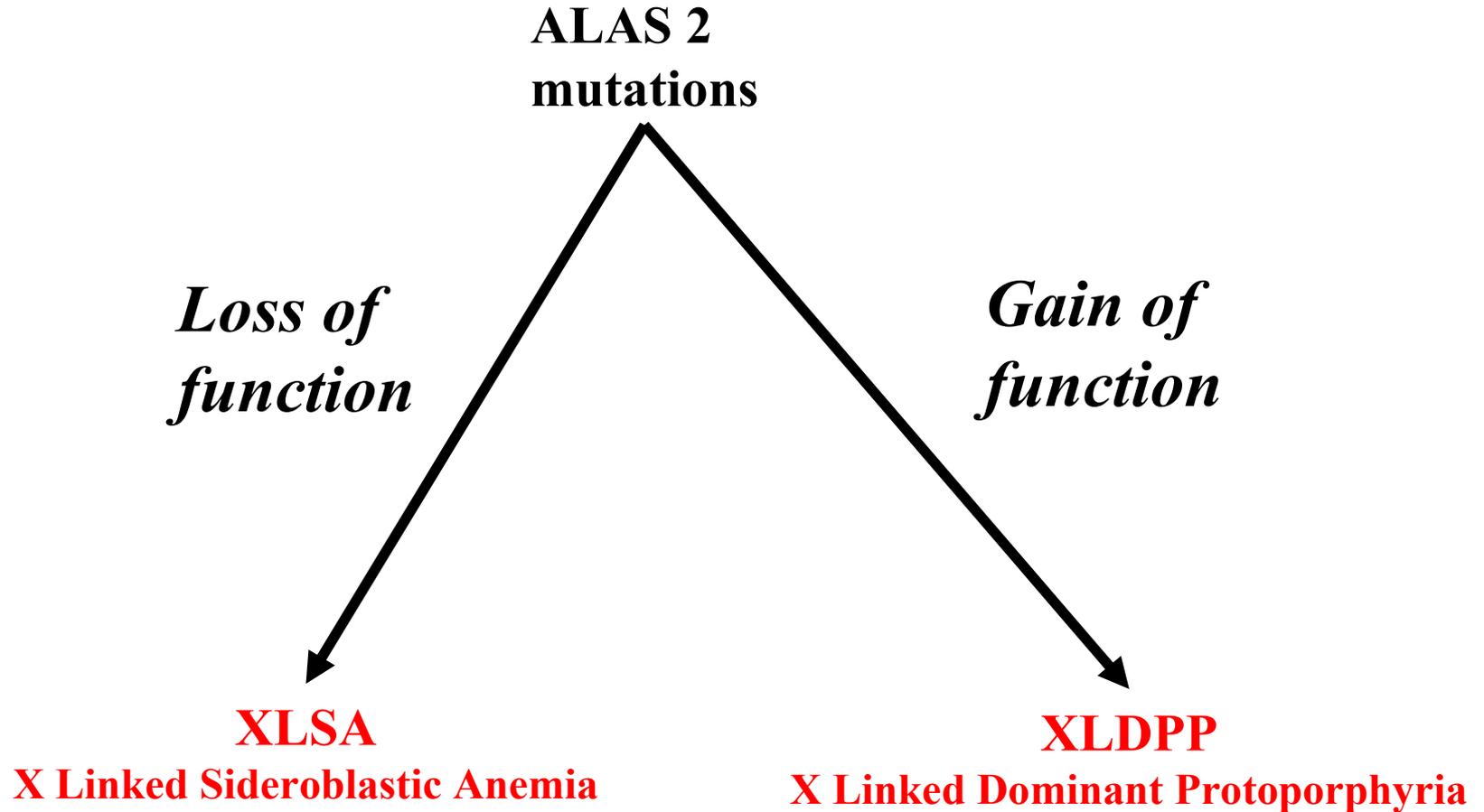
XLDPP



EPP



One ALAS 2 gene...two different diseases



One disease ...two different genes

**Painful photosensitivity
Protoporphyrinemia**

FECH
Loss of
function

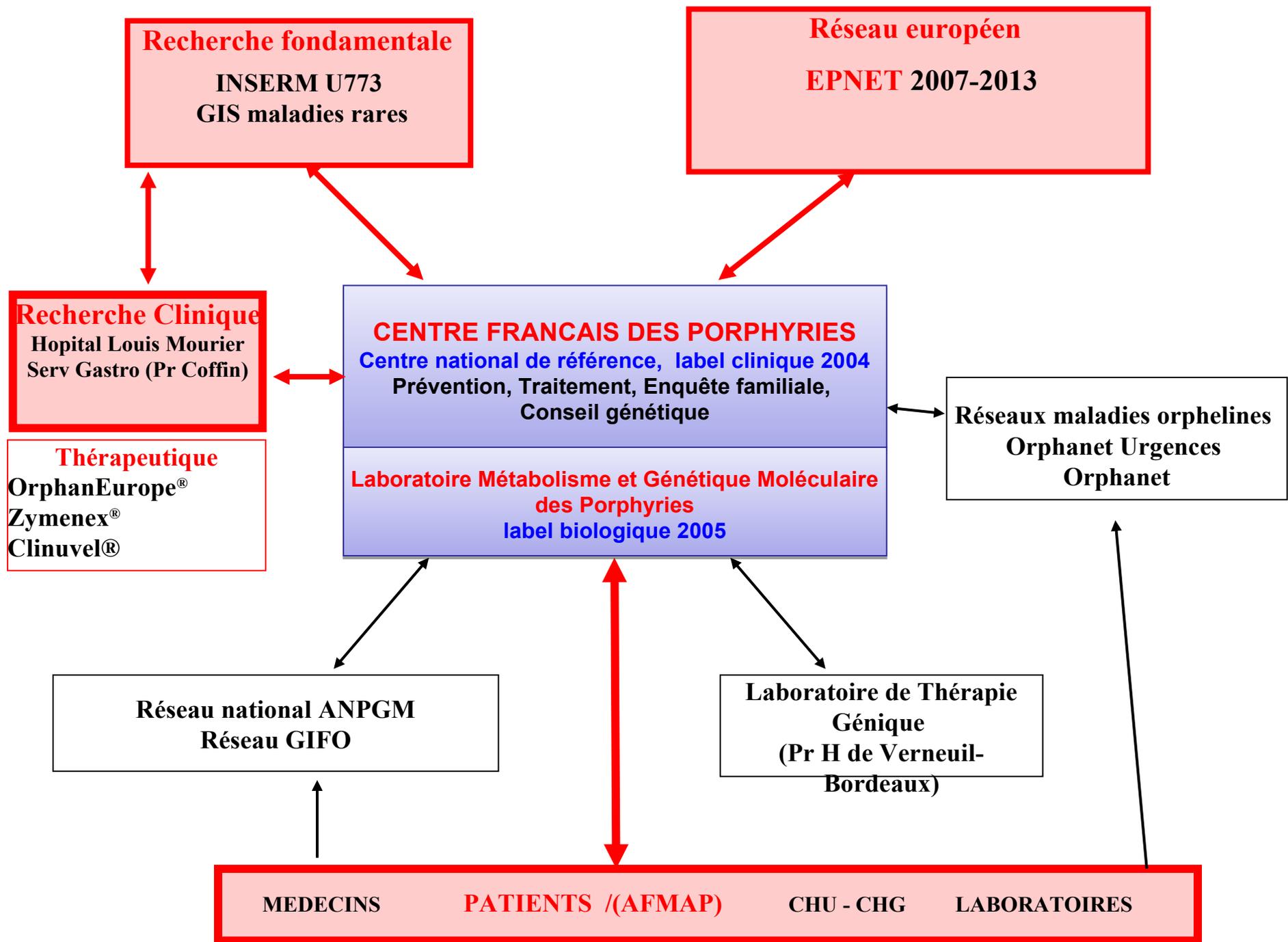
ALAS2
Gain of
function

dEPP

**Dominant or recessive
Erythropoietic Protoporphyrinemia**

XLDPP

X Linked Dominant Protoporphyrinemia



L'équipe du CFP :

- **Secrétariat :**
 - Catherine Roquin
 - Dominique
- **Personnel Médical :**
 - Pierre Bouizegarène
 - Jean-Charles Deybach
 - Laurent Gouya
 - Thibaud Lefebvre
 - Hervé Puy
 - Caroline Schmitt
 - Neila Talbi
- **Techniciens Laboratoire**
 - Nathalie Clément
 - Corinne Curelier
 - Nathalie Dessendier
 - Sylvie Simonin
- **Recherche :**
 - Unité INSERM U773 Fac Bichat
(Carole Beaumont, Bernard Grandchamp)*
 - Sarah Ducamp
 - Zoubida Karim
 - Said Lyoumi
 - Vincent Oustric
 - Angèle Yu
- **Génétique moléculaire :**
 - Jérôme Lamoril
 - Anne-Marie Robréau
 - Dimitri Tchernitchko
- **Informatisation (Cemara) :**
 - Isabelle Puy
 - Vasco Pereira da Silva

Et des Patients...

- 1500 arbres généalogiques (2-4 générations)
- 15-20 000 porteurs ou patients répertoriés
- **« Files actives » :**
 - Nouvelles Porphyries aiguës : 20-40/an
 - Porphyries aiguës « chroniques » : 40 (1-2 nouveaux cas par an)
 - Nouvelles Porphyries cutanées bulleuses (PCT) : 300/an
 - Nouvelles Porphyries photo-algiques (PPE) : 20/an
 - Plus de 6 000 appels téléphoniques/an au CFP pour conseils médicaux et préventifs

European Porphyria Network (EPNET)

BOARD

Jean-Charles Deybach CFP

Mike Badmington UK

George Elder UK

Jorge Frank D

Pauline Harper S

Pavel Martasek Cz

Elisabeth Minder CH

Hervé Puy CFP

Samantha Parker F (Orphan europe)

Sverre Sandberg N



”Développer un réseau européen sur les porphyries pour améliorer les connaissances des professionnels de santé et des familles, la prise en charge des patients et promouvoir la recherche”

Patient Information :
www.porphyrria-europe.org

Epnet

European Porphyria Initiative **Epnet** **European Porphyria Network**

For patients and families

- Introduction to porphyria
- Acute porphyrias
- Congenital Erythropoietic Porphyria (CEP)
- Erythropoietic Protoporphyrria (EPP)
- Porphyria Cutanea Tarda (PCT)

For healthcare professionals

- The Porphyrias
- Laboratory diagnosis
- Investigating the family
- Treatment
- Pain Management
- Congress Abstracts
- EPNET experts

Drugs and acute porphyrias

- Background information
- How to use the information?
- Common prescribing problems
- Selecting a drug

Important information

Both of the drugs that are available to treat swine flu, oseltamivir and zanamivir, are considered safe in patients with acute porphyria (NAPOS). Influenza vaccination is considered safe in patients with acute porphyria, including the specific vaccines developed for swine flu. Influenza infection, including swine flu, can be a very serious illness and could therefore precipitate an acute attack. Our advice is that patients who are routinely offered either seasonal and or swine flu vaccination as part of their national vaccination programme should accept.

About EPI/EPNET

- What is EPI?
- What is EPNET?

News

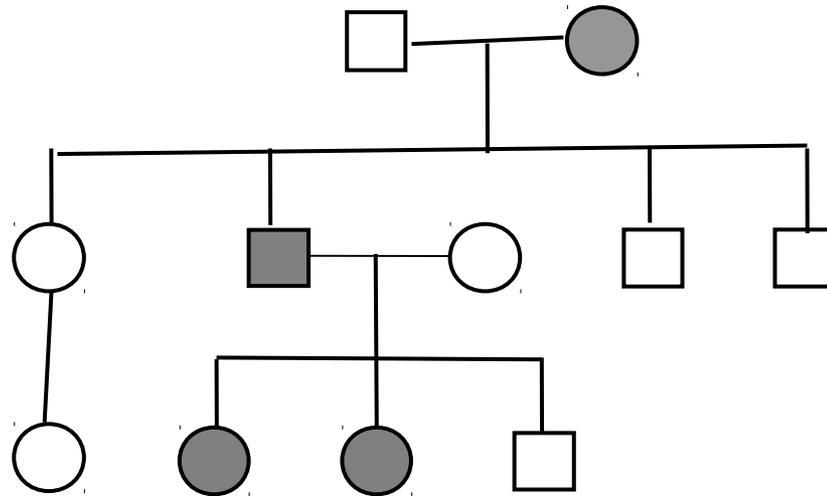
- Porphyria international conference, Stockholm June 14-18 2009
- Porphyria international conference, Cardiff 2011

Newsletter

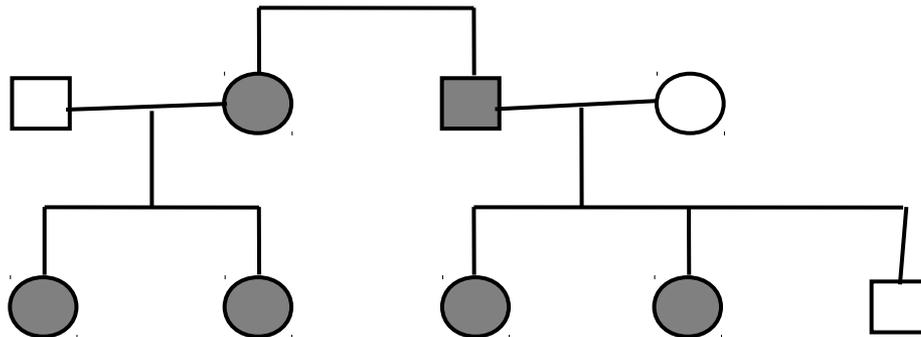
Enter your e-mail :

X-linkage

Family A



Family F



No father to son inheritance

ALAS2

- **Protoporphyrin accumulation segregated with a haplotype defined by microsatellite markers for the ALAS2 gene (excluded GATA1)**
- **Mutations in ALAS2 usually cause X-linked sideroblastic anaemia (XSLA) with iron overload**
- **Sequencing genomic DNA identified 2 new different deletions in exon 11 of ALAS2**

Insights (1)

- **Both deletions increased ALAS2 activity**
- **Altered sequence must have an important but yet unknown erythroid specific function**
- **Mutations stabilise ALAS2 against regulation**

Insights (2)

- **Protoporphyrin and zinc protoporphyrin accumulates in XLDPP because the rate of ALA formation is increased to such an extent that the insertion of Fe²⁺ into protoporphyrin becomes rate limiting**
- **Accumulation of zinc protoporphyrin suggests that the formation of excess haem is prevented by the lack of available iron**