

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2019

THESE 2019 TOU3 2019

**THESE**

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par

**Thibaut JAMME**

**Sitostérolémie, à propos d'un cas**

Le 12 Avril 2019

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur **Thierry LEVADE**

**JURY**

Président : Madame la Professeur Couderc Bettina  
1er assesseur : Madame la Docteur Verdier Céline  
2ème assesseur : Monsieur le Professeur Ferrières Jean  
3ème assesseur : Monsieur le Professeur Levade Thierry

*A mon papi Rémi,  
J'aurai tellement aimé que tu sois présent aujourd'hui*

**PERSONNEL ENSEIGNANT**  
**de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier**  
**au 1<sup>er</sup> janvier 2019**

**Professeurs Emérites**

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SIE P.	Hématologie

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

**Universitaires**

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

## Maitres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

M. CESTAC P. (*)	Pharmacie Clinique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique
Mme SERONIE-VIVIEN S. (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

### Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C.	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C.	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DERAËVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
Mme MONFERRAN S.	Biochimie
M. OLICHON A.	Biochimie
Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie
Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme LARGEAUD L.	Immunologie
M. MOUMENI A.	Biochimie
M. METSU D.	Pharmacologie
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S	Biophysique

### Assistant Associé des Universités

Mme MARTINI H	Physiologie
---------------	-------------

## Remerciements :

### **A Madame le Professeur Bettina Couderc**

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury. Je n'oublierai jamais votre gentillesse et votre bonne humeur au cours de vos enseignements à la faculté de pharmacie.

### **A Madame le Docteur Céline Verdier**

Je te remercie d'avoir accepté de participer à ce jury et à la critique de ce travail. Je te remercie pour tout ce que tu m'as appris lors de mon semestre de biochimie, que ce soit sur la biochimie, la qualité, les différents rôles du biologiste médical, la gestion d'un PTA mais aussi sur la vallée d'Aure. C'est un plaisir de travailler à tes côtés.

### **A Monsieur le Professeur Jean Ferrières**

Je vous remercie de me faire l'honneur d'être membre de ce jury, d'avoir accepté de juger ce travail et d'y apporter votre expertise clinique. J'ai apprécié votre gentillesse, votre humour et votre pédagogie lors de notre rencontre et de chacun de nos appels.

### **A Monsieur le Professeur Thierry Levade**

Je remercie votre fille Marie qui m'a encadré lors de mon master 1, ce qui m'a permis de connaître le plaisir de travailler avec un Levade, cela m'a tout naturellement dirigé vers vous pour ma thèse.

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de me confier et d'encadrer ce sujet de thèse. Merci pour votre bonne humeur, votre gentillesse, votre réactivité, votre disponibilité à toute épreuve et vos relectures en des temps records. Merci de m'avoir fait partager votre savoir et votre curiosité tout au long de ce travail. J'ai commencé avec plaisir mon internat avec votre fille comme responsable de master et je ne me suis pas trompé en le finissant avec vous comme directeur de thèse. Grâce à vous je fais partie de ces rares internes qui ont pris plaisir à écrire une thèse, un grand MERCI.

## **A mes parents**

Comment vous remercier en quelques phrases pour tout ce que vous avez fait pour nous...

Merci, de nous avoir appris à être grand dès le plus jeune âge.

Merci, de nous avoir toujours fait confiance.

Merci, de toujours avoir été là pour nous.

Merci, de toujours avoir cru en nous.

Merci, de m'avoir supporté dans mes moments d'excès.

Merci, de nous avoir soutenu dans tous nos projets : scolaires, professionnels, sportifs ...

Merci, de tous les sacrifices que vous avez fait pour nous.

Merci, de nous avoir appris à aimer les plaisirs simples de la vie.

Merci, de nous avoir appris à être heureux et épanoui tout simplement.

Merci, pour votre amour incommensurable.

Merci, de m'avoir permis d'arriver là où j'en suis aujourd'hui...

## **A ma sœur**

Pour tous ces moments de complicité passés et à venir, pour nos bêtises, pour tes dents cassées sur la tête de lit, pour nos fous rires, pour toutes ces soirées qui ont souvent fini trop tard ou trop arrosées, pour ton soutien et ta tendresse. Mais aussi pour ton sale caractère et ta peur des lézards à queue de lapin... Merci d'avoir été et d'être toujours là pour moi.

## **A mes grands-parents**

Papi Pierrot et mamie Colette, je ne vous remercierai jamais assez pour les étés à Valras, à Soustons, à Saint-Pierre-de-Trivisy, les Pyrénées, les Alpes, la Normandie, la Bretagne, Paris, la Dordogne, Disney, le parc Astérix si aujourd'hui j'aime autant voyager et découvrir le Monde c'est sans aucun doute votre héritage.

Mamie Henriette, les souvenirs à Bans avec toi et papi sont nombreux et tous aussi agréables les uns que les autres. Cette ferme c'est mon havre de paix, j'ai l'impression d'y avoir grandi toute mon enfance, et quand ça va mal c'est là-bas avec toi que j'aime me ressourcer.

Merci à vous de m'avoir autant gardé quand j'étais petit, j'ai conscience de tout ce que vous avez fait pour moi et je vous en remercie. Si j'en suis là aujourd'hui c'est aussi grâce à vous.

## **A Rémy**

Tu es le frère que je n'ai jamais eu. Merci pour tous ces moments partagés depuis tout petit. Peu importe que nos sorties soit sportives ou festives l'important c'est qu'elles se terminent autour d'une table et d'un bon repas, ça reste de loin notre domaine de prédilection.

## **A ma famille**

Vous faites entièrement partie de moi et je me suis construit grâce à vous. Merci à tous.

### **Aux copains de la fac**

Du jour où j'ai eu mon concours de PCEP1 à aujourd'hui la fac ne restera qu'un souvenir de bonheur. Et ce bonheur c'était surtout grâce à vos rencontres : Mathieu le Néocalédonien, Nico l'Ariégeois, Vincent Clapou, Pao et Ambre les Albigeois, Agathe la jeune maman, Julie l'infatigable, Sabine, Aurélie, Clothilde, Camille, Benjamin, Fanny, Romain, Anne-So, Judith et tous les autres...

Mais la fac c'était aussi le PORC XV, ses copains, ses soirées et ses voyages, PA et Marin les fans d'astrologie, Alexis le Toy, Patch (un jour tu leurs diras que c'est d'avoir joué avec moi qui t'a permis d'exploser), l'Agneau (le phoenix qui renaît de ses cendres, encore désolé d'avoir failli te noyer), les vieux (Nabou, Greg, Jérôme, Dussaut, Buffet, Jeff ...) et les jeunes (Guillaume, Clément, Benoit, Baudracco, Léo, Pradel, Duclos... )

Avec du recul, la fac c'était en fait juste une grande soirée qui dura des années, forcément ponctué d'innombrables sessions de rattrapages et de redoublement mais pour rien au monde je ne changerai quoi que ce soit.

### **Aux Siciliens**

Vous les copains de toujours Anaïs, Marie, Claire, Thibault, Vincent, Nicolas, Fabien bientôt 20 ans qu'on se supporte à répéter en boucle les mêmes blagues. Je n'oublierai jamais nos vacances à l'océan, à la montagne, en Tanzanie ou au camping. Nos rencontres au complet se font plus rares mais je prends toujours autant de plaisir à vous retrouver dès que nos emplois du temps nous le permettent.

### **Aux copains de Limoges**

De très loin mon meilleur semestre, qu'est-ce qu'on aura rigolé à l'internat : Eline, Nico, Jennyfer le GR20 reste un merveilleux souvenir en votre compagnie ; Thibault, Gérau, Gicquet, Benjamin les survivants de Guéret, et puis évidemment Justine, Juliette, Ruben, Mathilde. Jacques pour ces gardes interminables que l'on a partagé et pour m'avoir coaché en natation pour le half-ironman.

Mylène, Marie-Fleur, Marine pour votre bonne humeur quotidienne.

### **Aux Ariégeois**

Nans, Max, Charles, Clément, Guillaume, Jean-Baptiste, Yvan, que de belles rencontres ! Avec vous on ne sait jamais ce qu'il va se passer, toutes les soirées sont aussi improbables les unes que les autres, la seule chose sûre c'est que l'on passe toujours un bon moment.

**Aux internes Toulousains et Bordelais avec qui j'ai eu la chance de travailler, d'apprendre et de beaucoup rigoler au cours de mon internat :** Solweig, Marine, Thomas, Claire, Ludivine, Jordi, Samuel, Hugo, Barni, Benjamin, Ali, Imane, Camille, Antho, Julien, Etienne, Jules, Alice-Anne, Emmanuel, Stéphanie, Lise, Morgane, Pauline, Monpagens, Iris, Karen, Isabelle, Steph, Valentin, Jean et tous les autres.

### **A Claudia**

Tu auras réussi à me supporter pendant 4 semestres en tant que co-interne. On aura vécu ensemble l'hémato à HL, Limoges, nos premières gardes, les lendemains de soirées difficiles ... Je n'oublierai jamais ton sens de l'orientation légendaire, tu te repères dans chaque CHU comme personne. Merci pour tous ces bons moments partagés j'espère que l'on aura à nouveau l'occasion de travailler ensemble.

### **A Matthieu**

Tu as réussi à me réconcilier avec Bordeaux (ville aquatique) et ce n'était pas gagné. Cette coloc c'était six mois de pur bonheur à vivre avec toi. Je n'oublierai jamais les soirées rhum hamac sur la terrasse, la découverte de ma drépanocytose, le vélo involable, la soirée sans ampoules, les matins aux capucins, les après-midis place du Parlement, le dilemme quotidien : pate carbo ou pesto, et puis tous ces matins à rigoler avant d'aller en stage. N'oublie pas on est champion du monde.

### **A Paola**

Ma petite Basque, ton caractère n'a d'égal que ton grand cœur. Avec toi on ne peut jamais s'ennuyer, chaque instant à tes côtés c'est du rire, des larmes, des interminables discussions, mais surtout beaucoup de bonheur. Il aura fallu que j'aie à Limoges pour te rencontrer, au DU Qualité pour te connaître et que je rase ma moustache pour te séduire. Que d'efforts, mais ils en valent la peine... Tu es sans aucun doute la plus belle rencontre de cet internat. Merci pour ton amour et ton soutien, merci de toujours croire en moi. Je t'aime.

Je remercie tous les techniciens, les biologistes, les cliniciens, les internes que j'ai eu la chance de rencontrer au cours de mon internat, que ce soit à Bordeaux, à Limoges, à Toulouse ou à Albi ; qui m'ont instruit et ont permis de rendre cette expérience aussi belle qu'enrichissante.

Je remercie les professeurs de la faculté pour vos enseignements et particulièrement monsieur le Pr Dousset qui un jour en PCEP1 a inscrit au tableau pour nous souhaiter bonne chance pour le concours « *Jette ton cœur au-delà de l'obstacle et ton cheval suivra* », ce jour-là tout à changer pour moi et cette phrase résonne encore au fond de moi.



## Abréviations

**ABCA1** : ATP-binding cassette sub-family A member 1

**ABCG5** : ATP-binding cassette sub-family G member 5

**ABCG8** : ATP-binding cassette sub-family G member 8

**ACAT2** : Acyl-coenzyme A: Cholesterol acyl transferase 2

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**ADP** : Adénosine diphosphate

**AP-HP** : Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

**B48** : Apolipoprotéine B48

**CE** : Cholestérol estérifié

**CM**: Chylomicrons

**CT** : Cholestérol total

**ECD** : Domaine extracellulaire

**ER** : Réticulum endoplasmique

**ERC** : Compartiment de recyclage de la voie d'endocytose

**HDL** : Lipoprotéines de haute densité

**HDL-C** : Cholestérol des Lipoprotéines de haute densité

**KO** : Knock-out

**LCAT** : Lecithin-cholesterol acyl transferase

**LDL-C** : Cholestérol des lipoprotéines de basse densité

**LDL-R** : Récepteur des lipoprotéines de basse densité

**Lp(a)** : Lipoprotéine a

**LpA-I** : Lipoparticule A-I

**NBD** : Nucleotide binding domains

**NPC1L1**: Niemann-Pick disease C1-like1

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PCSK9** : Proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9

**SRB1**: Scavenger receptor class B type 1

**TCA** : Temps de céphaline activée

**TG** : Triglycérides

**TMD** : Domaine transmembranaire

**TRAC** : Thrombocytopenia and cardiomyopathy

**VLDL-C** : Cholestérol des lipoprotéines de très basse densité

**VMP** : Volume moyen plaquettaire

## Table des matières

<b>I. Introduction .....</b>	<b>15</b>
<b>II. Physiopathologie de la sitostérolémie .....</b>	<b>17</b>
<b>A. Les phytostérols ou stérols végétaux .....</b>	<b>17</b>
<b>B. Métabolisme normal des stérols.....</b>	<b>18</b>
1. Généralités .....	18
2. Les gènes <i>ABCG5</i> et <i>ABCG8</i> .....	22
3. Les protéines <i>ABCG5</i> et <i>ABCG8</i> .....	23
a) Structures protéiques des hétérodimères <i>ABCG5</i> et <i>ABCG8</i> .....	24
b) Structure du transporteur <i>ABCG5/ABCG8</i> .....	24
c) Spécificité de substrat .....	25
d) Distribution tissulaire .....	26
<b>C. La sitostérolémie .....</b>	<b>26</b>
<b>D. Modèles animaux .....</b>	<b>29</b>
1. Modèles spontanés .....	29
a) Rats WKY, SHR et SHRSP.....	29
b) Souris TRAC.....	30
2. Modèles créés .....	31
a) Souris déficientes pour <i>ABCG5</i> et/ou <i>ABCG8</i> .....	31
b) Souris surexprimant <i>ABCG5</i> et <i>ABCG8</i> .....	32
<b>III. Présentations cliniques de la sitostérolémie .....</b>	<b>33</b>
<b>A. Xanthomes et xanthélasmas.....</b>	<b>33</b>

1.	Généralités .....	33
2.	Cas de la sitostérolémie .....	33
3.	Diagnostic différentiel .....	35
<b>B.</b>	<b>Athérosclérose .....</b>	<b>36</b>
1.	Formation de la plaque d'athérome par les phytostérols.....	36
2.	Conséquences de l'athérosclérose.....	37
<b>C.</b>	<b>Arthralgies.....</b>	<b>38</b>
<b>D.</b>	<b>Atteinte des globules rouges et des plaquettes.....</b>	<b>38</b>
<b>E.</b>	<b>Calculs biliaires .....</b>	<b>40</b>
<b>F.</b>	<b>Splénomégalie .....</b>	<b>41</b>
<b>G.</b>	<b>Insuffisance hépatique.....</b>	<b>41</b>
<b>IV.</b>	<b>Diagnostic biologique de la sitostérolémie .....</b>	<b>42</b>
<b>A.</b>	<b>Dosages de routine .....</b>	<b>42</b>
1.	Biochimie.....	42
a)	Exploration d'une anémie .....	42
b)	Exploration lipidique.....	42
2.	Hématologie.....	44
a)	Cytologie.....	44
b)	Hémostase.....	47
c)	Diagnostic différentiel .....	48
<b>B.</b>	<b>Dosages spécifiques.....</b>	<b>48</b>
1.	Dosage des stérols végétaux .....	48

2.	Analyse mutationnelle et conseil génétique .....	51
a)	Analyse mutationnelle par biologie moléculaire .....	51
b)	Conseil génétique .....	53
<b>V.</b>	<b><i>Thérapeutique</i></b> .....	<b>57</b>
<b>A.</b>	<b>Régime alimentaire</b> .....	<b>57</b>
1.	Diminution de l'apport de phytostérols .....	57
2.	Utilisation des phytostérols pour réduire l'absorption du cholestérol .....	58
<b>B.</b>	<b>Cholestyramine</b> .....	<b>59</b>
<b>C.</b>	<b>Ezetimibe</b> .....	<b>61</b>
<b>D.</b>	<b>Lipoprotéine aphérèse</b> .....	<b>64</b>
<b>E.</b>	<b>Traitement chirurgical</b> .....	<b>66</b>
<b>F.</b>	<b>Greffe hépatique</b> .....	<b>66</b>
<b>VI.</b>	<b><i>A propos du cas de Mademoiselle CAL</i></b> .....	<b>67</b>
<b>A.</b>	<b>Anamnèse</b> .....	<b>67</b>
<b>B.</b>	<b>Hypothèses diagnostiques</b> .....	<b>72</b>
<b>C.</b>	<b>Diagnostic</b> .....	<b>72</b>
1.	Bilan cardiovasculaire.....	72
2.	Diagnostic biologique .....	73
a)	Dosages de routine .....	73
(1)	Biochimie .....	73
(2)	Hématologie .....	75
b)	Dosages spécifiques.....	76

(1) Dosage des stérols végétaux.....	76
(2) Analyse mutationnelle par biologie moléculaire .....	78
c) Diagnostic retenu .....	80
<b>D. Traitement .....</b>	<b>80</b>
<b>E. Suivi de la patiente .....</b>	<b>81</b>
<b>VII. Conclusion.....</b>	<b>83</b>

# Table des illustrations

<b>Figure 1</b> – Comparaison des structures des stérols et stanols végétaux par rapport au cholestérol <sup>7</sup> .....	18
<b>Figure 2</b> – Absorption du cholestérol et des autres stérols alimentaires par l'entérocyte <sup>16</sup> .....	21
<b>Figure 3</b> – Les gènes ABCG5 et ABCG8 <sup>17</sup> .....	22
<b>Figure 4</b> - Représentation des protéines ABCG5 et ABCG5 <sup>19</sup> .....	24
<b>Figure 5</b> - Représentations du transporteur ABCG5/ABCG8 <sup>19</sup> .....	25
<b>Figure 6</b> - Fonction des hétérodimères ABCG5 et ABCG8 à la membrane apicale <sup>7</sup> .....	25
<b>Figure 7</b> - Absorption intestinale et biliaire du cholestérol et des stérols végétaux <sup>20</sup> .....	26
<b>Figure 8</b> - Rôle des récepteurs ABCG5/ABCG8 et conséquence de leurs mutations <sup>20</sup> .....	28
<b>Figure 9</b> - Représentation de la protéine ABCG5 chez les souris trac <sup>26</sup> .....	31
<b>Figure 10</b> - Xanthomes (A) et Xanthélasmas (B) <sup>3</sup> .....	34
<b>Figure 11</b> - Formation de la plaque d'athérosclérose <sup>36</sup> .....	37
<b>Figure 12</b> - Présence de nombreux stomatocytes (flèches bleues) sur un frottis sanguin d'un patient avant traitement <sup>38</sup> .....	45
<b>Figure 13</b> - Disparition des nombreux stomatocytes (les flèches bleues indiquent quelques stomatocytes restant) sur le frottis sanguin d'un patient après traitement <sup>38</sup> .....	46
<b>Figure 14</b> - Présence de plaquettes géantes sur le frottis sanguin d'un patient atteint de sitostérolémie <sup>31</sup> .....	47

<b>Figure 15</b> - Représentation schématique des 13 exons de ABCG5 et ABCG8, de leurs polymorphismes et de leurs mutations <sup>55</sup> .....	52
<b>Figure 16</b> – Descendance d’un couple composé de deux individus porteurs sains hétérozygotes <sup>56</sup> .....	54
<b>Figure 17</b> – Descendance d’un couple composé d’un individu homozygote malade et d’un individu homozygote sain <sup>56</sup> .....	55
<b>Figure 18</b> - Descendance d'un couple composé d'un individu homozygote malade et d'un individu hétérozygote porteur sain <sup>56</sup> .....	55
<b>Figure 19</b> – Descendance d’un couple composé de deux individus homozygotes malades <sup>56</sup> <sup>56</sup> .....	56
<b>Figure 20</b> - Mécanisme d'action de la cholestyramine <sup>59</sup> .....	61
<b>Figure 21</b> - Mécanisme d'action de l'ezetimibe <sup>62</sup> .....	63
<b>Figure 22</b> - Mutation des LDL-R <sup>69</sup> .....	68
<b>Figure 23</b> – Mutation de l’apoB <sup>69</sup> .....	70
<b>Figure 24</b> - Mutation de PCSK9 <sup>69</sup> .....	71
<b>Figure 25</b> - Histogrammes représentant la distribution du volume plaquettaire (en fL) .....	75
<b>Figure 26</b> - Chromatogramme après CPG-FID .....	77
<b>Figure 27</b> - Feuille de résultats de la CPG-FID de la patiente et de ses parents .....	78
<b>Tableau 28</b> - Évolution des paramètres du bilan lipidique au cours du temps chez notre patiente .....	82



## I. Introduction

La sitostérolémie est une maladie familiale de découverte relativement récente : elle est décrite pour la première fois en 1973 chez deux sœurs Amish. Le nom de la maladie est en réalité dérivé de sitostérol, qui est le nom du composé majoritairement retrouvé accumulé dans le sérum des deux sœurs atteintes de cette maladie décrite dans la publication de Bhattacharrya et Connor <sup>1</sup>.

La sitostérolémie est, de nos jours, aussi connue sous le nom de phytostérolémie, ou encore, de xénostérolémie. Un excès de stérols végétaux ou phytostérols (sitostérol et campesterol en majorité) est retrouvé dans le plasma et les tissus chez le sujet atteint.

Cette maladie génétique, de transmission autosomique récessive, est due à des mutations sur les gènes qui codent pour les protéines ABCG5 et ABCG8. Ces protéines permettent l'élimination des stérols végétaux alimentaires absorbés par les entérocytes, via le transporteur NPC1L1. La sitostérolémie est plus fréquente dans certaines populations, comme les Amish, les populations de l'Europe et de l'Amérique du nord, de la Chine, du Japon et de l'Inde <sup>2</sup>.

La prévalence de cette maladie est difficile à déterminer, mais les premiers articles de la littérature scientifique parlent de 50 familles touchées dans le monde. Cette valeur est vraisemblablement sous-estimée en raison d'un nombre important de patients non diagnostiqués. Actuellement, la prévalence de la sitostérolémie est estimée à 1/50 000 habitants <sup>3</sup>.

Lors de leur rapport de juin 2018, Les Cahiers d'Orphanet déclarent 100 rapports de cas publiés dans le monde <sup>4</sup>. Des études récentes sur l'incidence de cette maladie tendent à montrer qu'elle n'est pas aussi rare que ce que la littérature le laisse penser. Il semblerait que l'incidence soit de 1/200 chez les individus qui ont un taux de cholestérol LDL supérieur à 190 mg/dL <sup>5</sup>.

Le tableau clinique caractéristique de la sitostérolémie est souvent mal connu des médecins, ce qui participe bien souvent à l'errance diagnostique. Une revue bibliographique des cas de la littérature depuis 1974 montre que l'âge moyen de diagnostic est de 31 ans ; le plus jeune patient a été diagnostiqué à l'âge de 2 ans, alors que le diagnostic du patient le plus âgé a été porté à l'âge de 61 ans <sup>6</sup>.

La première partie de ce travail se consacre à la physiopathologie, à la présentation clinique, au diagnostic biologique, et à la thérapeutique de la sitostérolémie. La deuxième partie décrit le diagnostic de sitostérolémie d'une patiente du Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse.

## II. Physiopathologie de la sitostérolémie

### A. Les phytostérols ou stérols végétaux

Les phytostérols ou stérols végétaux sont des produits naturels présents dans les huiles végétales, les graines (sésame par exemple), les fruits oléagineux (noix par exemple) ou encore les légumineuses. Une personne qui a une alimentation variée est exposée à plus de 60 xénostérols (stérols autres que le cholestérol) différents. La structure chimique des phytostérols est très proche de celle du cholestérol (voir figure 1). Ainsi, le cholestérol diffère simplement par un groupement éthyl avec le sitostérol, par un groupement méthyl avec le campestérol, ou par une double liaison supplémentaire avec le stigmastérol. Les stérols végétaux les plus retrouvés dans le plasma sont le sitostérol et le campestérol. Plus la longueur de la chaîne latérale est importante, moins la molécule semble absorbée, puisque l'hydrophobicité est augmentée et la solubilité dans les milieux aqueux est diminuée.

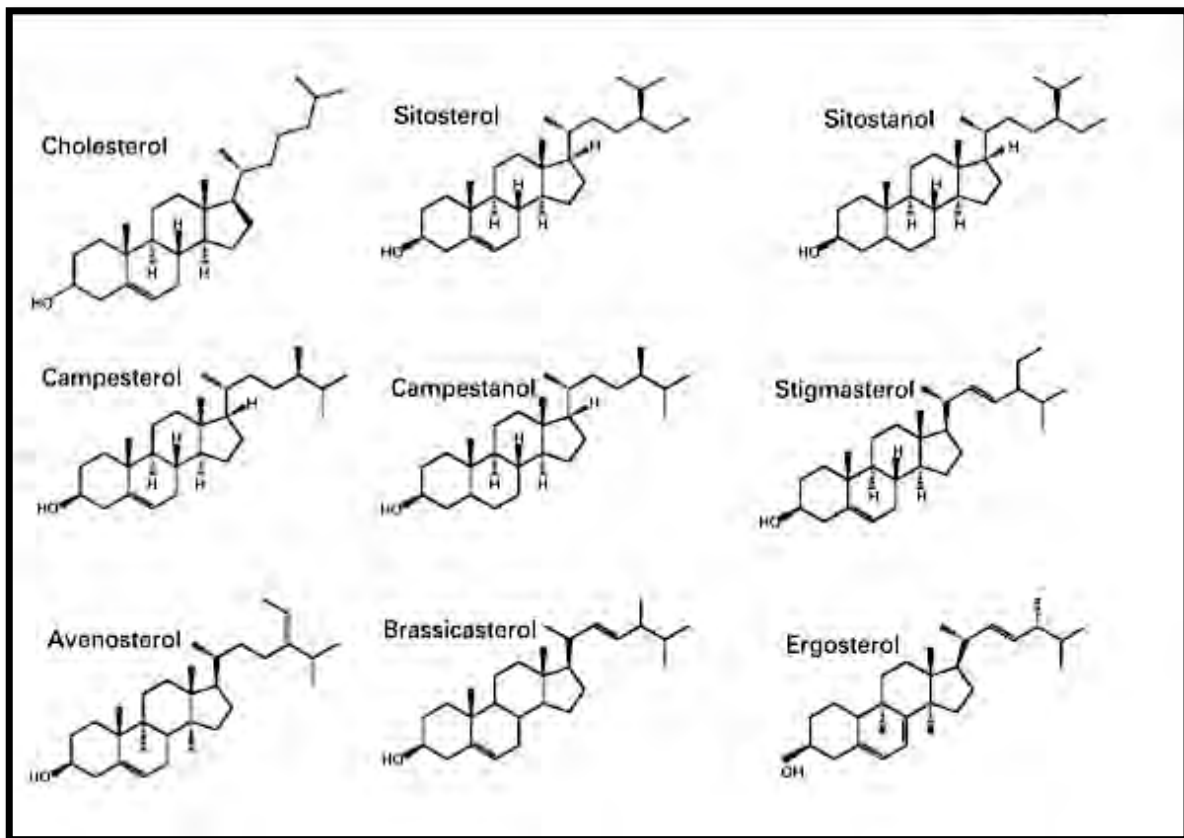


Figure 1 – Comparaison des structures des stérols et stanols végétaux par rapport au cholestérol<sup>7</sup>

La consommation moyenne en stérols végétaux pour une personne est voisine de 400 mg par jour. La présence dans le plasma de phytostérols est exclusivement due à leur absorption par les entérocytes, qui est d'environ de 5 % pour le sitostérol (alors que 30 à 80% du cholestérol alimentaire est absorbé)<sup>8</sup>.

## B. Métabolisme normal des stérols

### 1. Généralités

Avant la première description de la sitostérolémie en 1974 dans la publication de Bhattacharya et Connor, pour la communauté scientifique, on pensait que les phytostérols

n'étaient pas absorbés par les entérocytes. Physiologiquement, l'absorption totale des stérols végétaux est très réduite et leur taux plasmatique extrêmement faible. Plusieurs mécanismes vont agir préférentiellement pour l'absorption du cholestérol et l'élimination des xénostérols<sup>9</sup>.

Dans les conditions physiologiques, les stérols (y compris les phytostérols) sont intégrés au sein de micelles au niveau de l'intestin grêle. Le cholestérol pourrait être absorbé via le récepteur SR-B1 (Scavenger receptor class B type 1) présent au pôle apical de l'entérocyte<sup>10</sup>, mais le transporteur NPC1L1 (Niemann-Pick disease C1-like 1) semble être majoritairement impliqué dans l'absorption du cholestérol libre<sup>11</sup>. Les micelles contenant les stérols végétaux sont partiellement absorbées par le récepteur NPC1L1. Ce récepteur est localisé à la bordure en brosse des entérocytes. Les taux de xénostérols sanguins dépendent de leur absorption par le transporteur NPC1L1. Le transporteur NPC1L1 a un domaine de liaison en N-terminal qui va autoriser une liaison préférentielle au cholestérol<sup>12</sup>.

Les xénostérols sont très rapidement redirigés vers la lumière intestinale grâce à l'action des transporteurs ABCG5 (ATP-binding cassette sub-family G member 5, ou stéroline 1) et ABCG8 (ATP-binding cassette sub-family G member 8, ou stéroline 2).

Les transporteurs ABCG5 et ABCG8 ne prennent généralement pas en charge le cholestérol, puisqu'il va préférentiellement y avoir une O-acylation par une O-acyltransférase, et une estérification du cholestérol par l'Acyl-coenzyme A : Cholestérol acyltransferase 2 ou ACAT2<sup>9</sup>. ACAT2 est seulement exprimé dans les hépatocytes et les entérocytes. Cette enzyme permet d'accumuler le cholestérol dans des chylomicrons au sein de l'entérocyte et facilite ainsi le transfert dans la circulation générale. Les stérols végétaux sont de mauvais substrats<sup>13</sup>,

ils sont moins estérifiés par l'ACAT2 que le cholestérol, ce qui empêche l'incorporation aux chylomicrons.

Le cholestérol non estérifié, ainsi que les autres stérols qui n'ont pas été intégrés au sein des chylomicrons vont retourner dans la lumière intestinale par le système transporteur ABCG5/ABCG8. Les stérols végétaux traversent ainsi la membrane apicale des entérocytes mais ne passent pas dans la circulation générale (voir figure 2).

Les transporteurs ABCG5 et ABCG8 sont sous le contrôle positif du récepteur nucléaire hétérodimère LXR/RXR, qui régule également l'expression du transporteur ABCA1 (pour ATB-binding cassette 1) impliqué dans le métabolisme des HDL <sup>14,15</sup>.

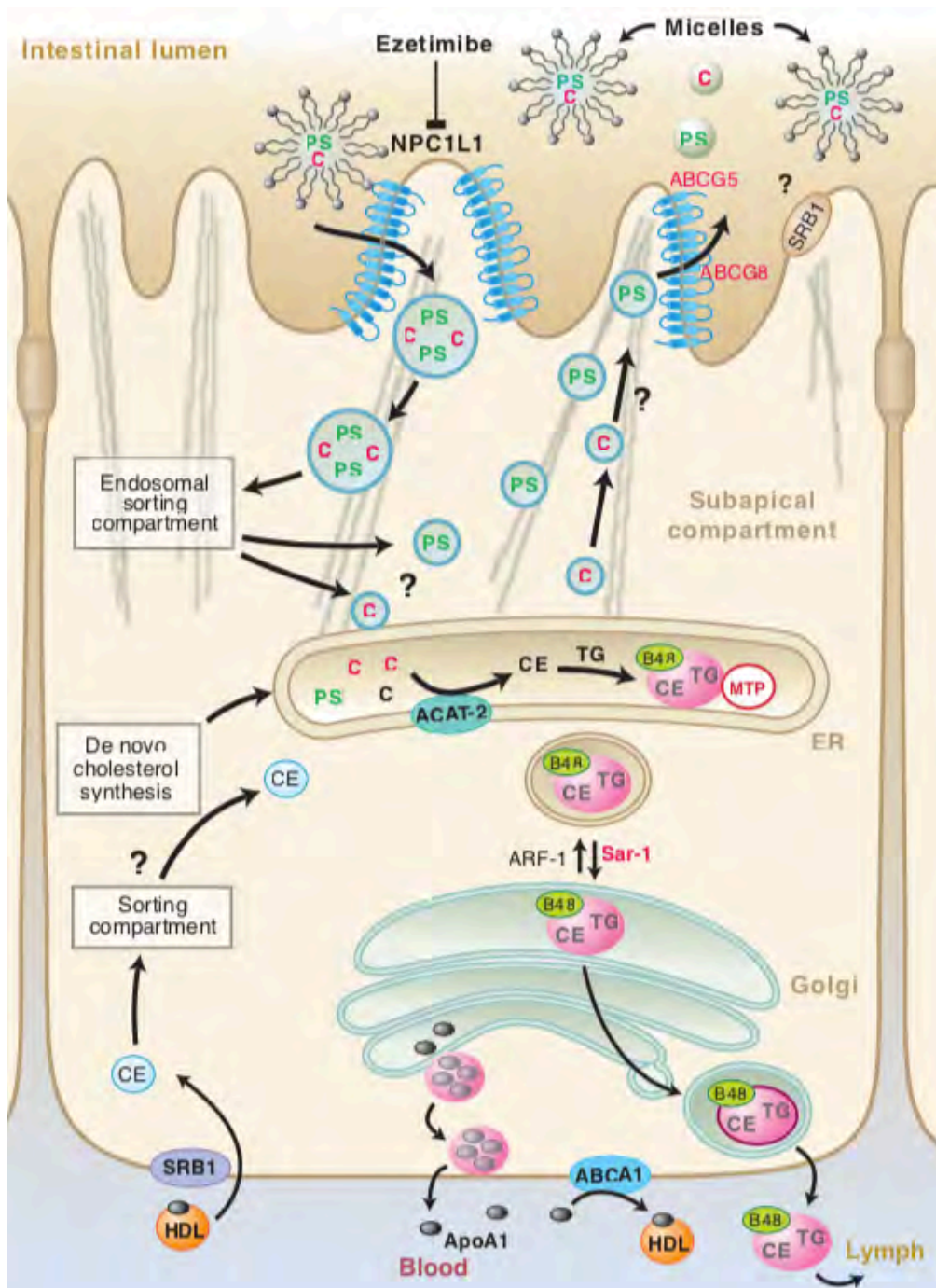
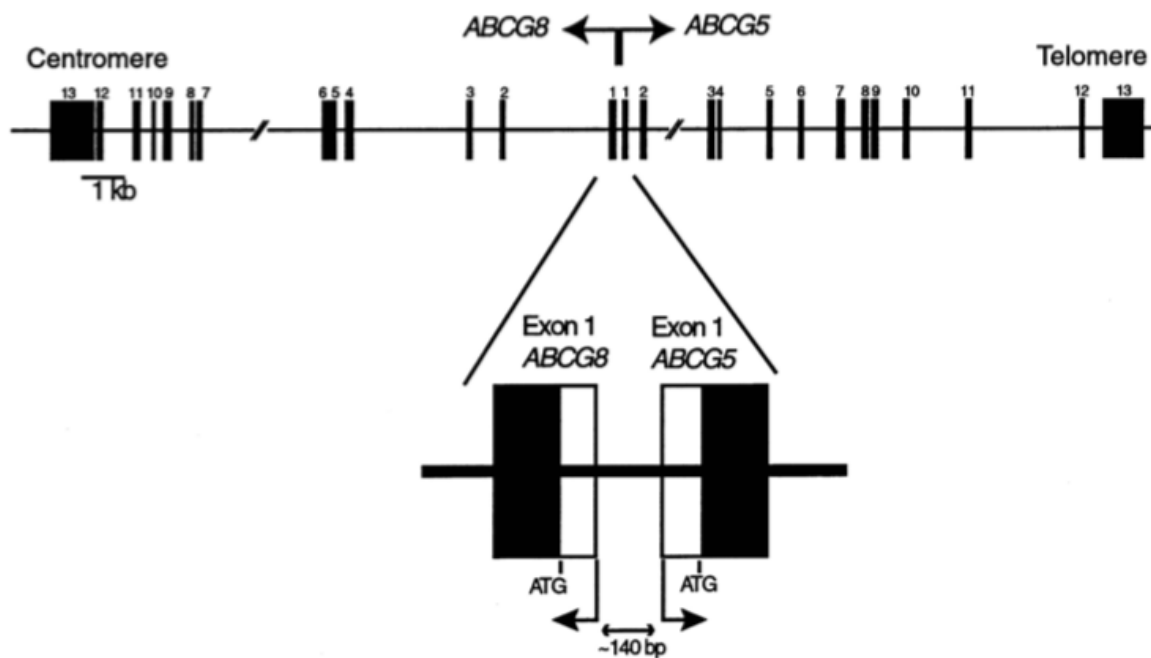


Figure 2 – Absorption du cholestérol et des autres stérols alimentaires par l'entérocyte <sup>16</sup>

NPC1L1 est un transporteur exprimé à la surface apicale des entérocytes, qui peut absorber sélectivement le cholestérol alimentaire (C) des micelles de la lumière de l'intestin grêle, une étape bloquée par l'Ezetimibe. NPC1L1 permet l'absorption de cholestérol et de stérols non cholestérol (phytostérols ; PS) dans des vésicules qui passent ensuite dans un compartiment de tri endosomal subapical. Les mutations dans les transporteurs ABCG5 ou ABCG8 entraînent une hyperabsorption de stérols végétaux alimentaires (PS) entraînant la sitostérolémie. Le compartiment de tri endosomal permet au cholestérol de progresser vers le réticulum endoplasmique (ER), où il est estérifié (CE) par ACAT2, puis transféré dans des chylomicrons (rose) qui seront sécrétés dans le sang ; les stérols végétaux sont reconduits à la lumière intestinale par ABCG5 et ABCG8. Le cholestérol synthétisé de novo est également estérifié par ACAT2 et pénètre dans les chylomicrons. Lorsqu'elle est liée, la protéine de transfert des triglycérides (MTP) transfère les lipides neutres dans les chylomicrons nouvellement formés dans le ER, une étape nécessaire dans la voie de la sécrétion des lipides. Les rôles joués par SR-B1, exprimé à la surface de l'entérocyte aux pôles apical et basolatéral, et ABCA1, exprimé au pôle basolatéral de l'entérocyte restent flous.

## 2. Les gènes *ABCG5* et *ABCG8*

Les gènes *ABCG5* et *ABCG8* sont situés sur la bande 1 de la région 2 sur le bras court du chromosome 2 (2p21). Plusieurs mutations délétères de ces gènes sont décrites. Les gènes *ABCG5* et *ABCG8* sont positionnés côte à côte sur le chromosome 2, ils sont orientés tête-bêche. Ils sont tous les deux constitués de 13 exons (voir figure 3). Les gènes *ABCG5* et *ABCG8* codent pour deux protéines *ABCG5* ou stéroline-1 et *ABCG8* ou stéroline-2.



**Figure 3** – Les gènes *ABCG5* et *ABCG8* <sup>17</sup>

Ces deux gènes ne sont séparés que de 140 paires de bases. Ils sont chacun composés de 13 exons et sont positionnés tête-bêche sur le bras court du chromosome 2.



La sitostérolémie est une maladie autosomique récessive. L'origine de la maladie peut être soit une mutation homozygote (la mutation est la même sur les deux allèles), soit une mutation hétérozygote composite (les mutations ne sont pas les mêmes pour les deux allèles). Les mutations au sein de la séquence des gènes *ABCG5* et/ou *ABCG8* vont coder pour des protéines *ABCG5* et/ou *ABCG8* non fonctionnelles.

### 3. Les protéines *ABCG5* et *ABCG8*

Les protéines *ABCG5* et *ABCG8* sont aussi respectivement connues sous le nom de stéroline-1 et stéroline-2. Ces protéines sont toutes les deux des hémitransporteurs ABC ou ATP-binding cassette. Les systèmes de transport ABC constituent une famille extrêmement vaste de protéines, que l'on retrouve dans tout le règne vivant. Ces transporteurs utilisent l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP pour l'import ou l'export unidirectionnel d'une variété considérable de substrats (des ions aux macromolécules). Les systèmes de transport ABC sont organisés en quatre domaines : deux domaines transmembranaires (TMD pour transmembrane domains) et deux domaines cytoplasmiques qui lient les nucléotides (NBD pour nucleotide binding domains). Les NBD partagent trois motifs caractérisant la « cassette » de fixation de l'ATP : les motifs de Walker A et B communs à toutes les protéines fixant des nucléosides triphosphates, et un motif LSGGQ, qui constitue la « signature » spécifique des transporteurs ABC. L'Homme possède 48 ABC transporteurs qui sont classés en 7 sous-familles de A à G <sup>18</sup>.

a) Structures protéiques des hétérodimères ABCG5 et ABCG8

Les hémitransporteurs ABCG5 et ABCG8 sont composés d'un domaine NBD qui est N-terminal et d'un domaine TMD qui est C-terminal. Le domaine TMD est composé de 6 domaines transmembranaires. Le domaine de liaison à l'ATP appartient au NBD. La liaison avec l'ATP va alors permettre un changement de la conformation (voir figure 4).

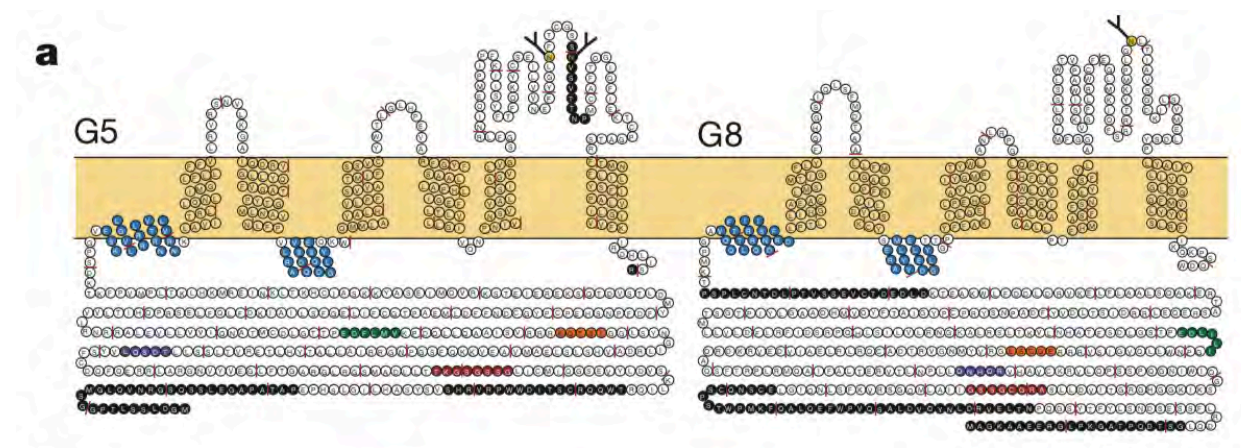


Figure 4 - Représentation des protéines ABCG5 et ABCG8 <sup>19</sup>

Les ronds noirs correspondent aux atomes « non résolus » du point de vue cristallographie. Les points bleus aux hélices de connexion CnH et aux hélices de couplage CpH. Les points rouges au Walker A. Les points verts au motif Walker B. Les points orange au motif LSGGQ de signature ABC. Les points violets à la boucle Q.

b) Structure du transporteur ABCG5/ABCG8

L'équipe Américaine du Dr Lee a étudié la structure du transporteur ABCG5/ABCG8 par cristallographie (étude des cristaux à l'échelle atomique). Les chercheurs ont découvert que c'est l'association d'un hémitransporteur ABCG5 avec un hémitransporteur ABCG8 qui permet de former la protéine hétérodimérique ABCG5/ABCG8. Cette protéine est un transporteur de la famille des exporteurs de type II <sup>19</sup> (voir figure 5).

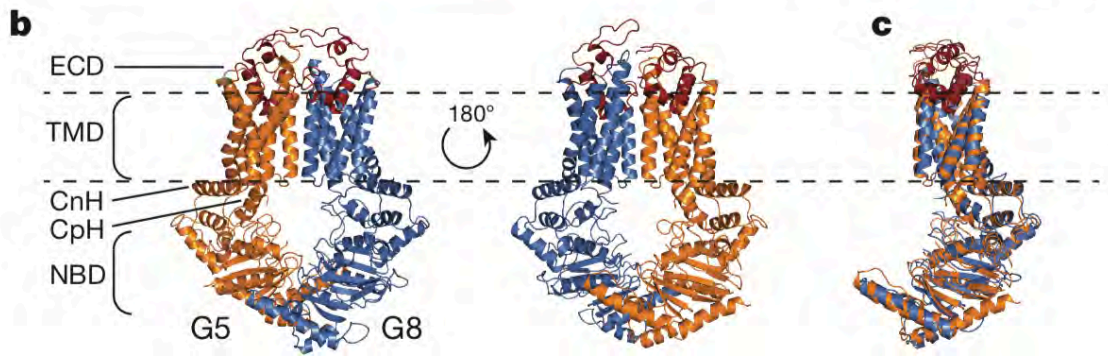


Figure 5 - Représentations du transporteur ABCG5/ABCG8<sup>19</sup>

En rouge, le domaine extracellulaire ou ECD. En orange, l'hémitransporteur ABCG5. En bleu, l'hémitransporteur ABCG8.

c) Spécificité de substrat

Les exporteurs ABCG5/ABCG8 vont pouvoir prendre en charge le cholestérol non estérifié ainsi que les stérols qui n'ont pas été intégrés au sein des chylomicrons afin de promouvoir leur élimination. Les transporteurs ABCG5/ABCG8 priorisent le transport des stérols végétaux à celui du cholestérol<sup>20</sup> (voir figure 6).

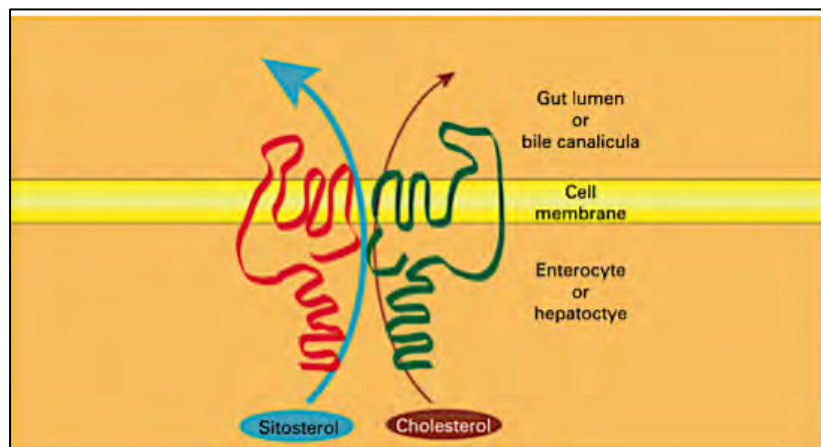
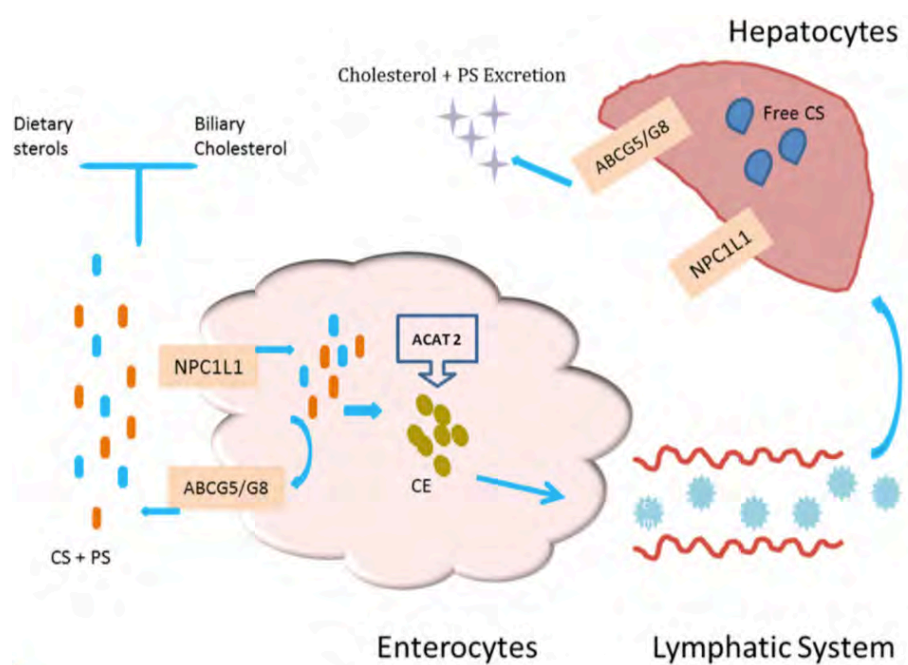


Figure 6 - Fonction des hétérodimères ABCG5 et ABCG8 à la membrane apicale<sup>7</sup>

Les exporteurs ABCG5/ABCG8 sont composés de deux sous-unités (ABCG5 en rouge et ABCG8 en vert). Ils vont exporter préférentiellement les stérols végétaux plutôt que le cholestérol.

#### d) Distribution tissulaire

Les hémitransporteurs ABCG5 et ABCG8 ne sont pas ubiquitaires. Les exporteurs ABCG5/ABCG8 sont situés à la membrane apicale des entérocytes et à la membrane canaliculaire du tractus biliaire<sup>7,21</sup> (voir figure 6). Dans l'entérocyte, ils vont promouvoir le retour des stérols végétaux dans la lumière intestinale. Alors que dans le foie ils vont promouvoir l'excrétion des stérols dans la bile<sup>7</sup>. Après avoir regagné la lumière intestinale ou les canaux biliaires, les stérols seront définitivement éliminés dans les selles (voir figure 7).



**Figure 7** - Absorption intestinale et biliaire du cholestérol et des stérols végétaux<sup>20</sup>

Le transporteur ABCG5/ABCG8 à la membrane des entérocytes permet d'excréter le cholestérol libre et les stérols végétaux dans la lumière intestinale. NPC1L1 à la membrane apicale des entérocytes et des hépatocytes facilite l'absorption intestinale et biliaire du cholestérol et des stérols végétaux. Le transporteur ABCG5/ABCG8 à la membrane des hépatocytes permet l'excrétion biliaire de cholestérol et des stérols végétaux.

#### C. La sitostérolémie

En 1974, aux États-Unis, Bhattacharrya et Connor décrivent, chez deux sœurs Amish, un taux plasmatique augmenté de phytostérols (sitostérol, campestérol, stigmastérol) avec un taux de cholestérol plasmatique normal associé à des xanthomes tendineux (au niveau des

deux coudes, des deux genoux, aux tendons extenseurs des mains, à la cheville, au tendon d'Achille). C'est le premier cas publié de sitostérolémie. Les deux chercheurs en concluent qu'il doit normalement y avoir un mécanisme qui empêche l'accumulation des stérols végétaux<sup>1</sup>. Les travaux qui ont suivi ont permis de montrer que ce sont les mutations des gènes *ABCG5* et *ABCG8* qui sont responsables de cette maladie rare.

La sitostérolémie est due à des mutations sur les transporteurs *ABCG5/ABCG8* qui vont réguler l'absorption et l'excrétion des stérols végétaux et du cholestérol non estérifié. La différence entre les sujets sains et les patients malades s'explique par l'inefficacité des exporteurs *ABCG5/ABCG8* à éliminer les stérols végétaux. Dans la sitostérolémie, les hétérodimères *ABCG5* et/ou *ABCG8* sont mutés, ce qui conduit à la formation d'un exporteur *ABCG5/ABCG8* non fonctionnel. L'inefficacité des exporteurs *ABCG5/ABCG8* conduit à l'hyperabsorption dans l'intestin et à un défaut d'élimination dans la bile des stérols végétaux<sup>22</sup>. Les phytostérols s'accumulent dans l'entérocyte et passent ensuite dans la circulation sanguine (voir figure 8). La consommation moyenne en stérols végétaux pour une personne est de 400 mg par jour. Les sujets sains absorbent en général moins de 5 % des stérols végétaux consommés, les concentrations plasmatiques et tissulaires en stérols végétaux sont donc très faibles. *A contrario*, chez les patients atteints de sitostérolémie, les concentrations plasmatiques et tissulaires en stérols végétaux sont de l'ordre de 10 à 65 mg/dL<sup>6</sup>, soit, une concentration qui est 50 à 60 fois supérieure à la normale<sup>10</sup>.

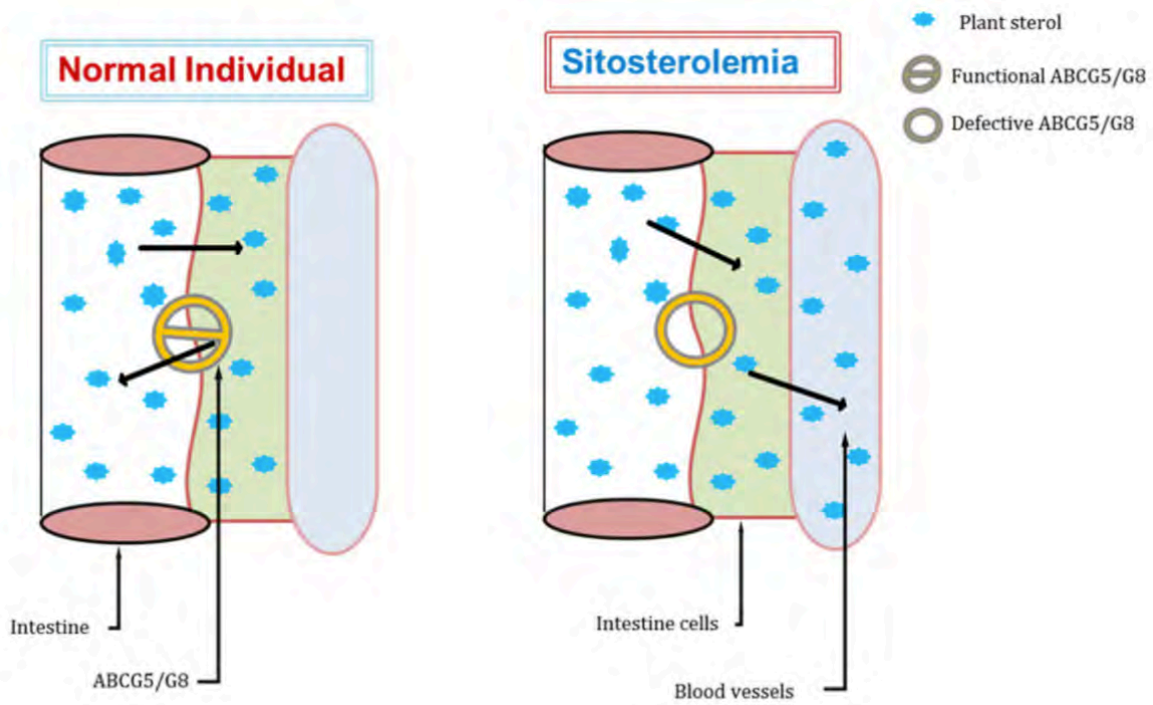


Figure 8 - Rôle des récepteurs ABCG5/ABCG8 et conséquence de leurs mutations<sup>20</sup>

Chez les sujets sains, les stérols végétaux sont absorbés dans les entérocytes puis transportés dans la lumière intestinale par les hétérodimères ABCG5/ABCG8. Chez les sujets atteints de sitostérolémie, les transporteurs ABCG5/G8 sont défectueux, les stérols végétaux ne retournent pas dans la lumière intestinale, ils passent dans la circulation sanguine.

C'est l'accumulation des stérols végétaux (principalement sitostérol et campestérol) dans les tissus périphériques qui serait la source des troubles cliniques de la maladie. Les principaux symptômes sont : les xanthomes et xanthélasmas, une athérosclérose précoce, des arthralgies, une anémie, une macrothrombocytopénie, des troubles hémorragiques, des atteintes biliaires, une splénomégalie et une insuffisance hépatique. L'expression clinique est extrêmement hétérogène d'un patient à un autre. L'observation des taux plasmatiques de stérols végétaux chez les patients atteints de sitostérolémie montre aussi une grande hétérogénéité de valeurs.

Il y a des spéculations sur le fait que d'autres facteurs influenceraient le phénotype clinique de la maladie. L'analyse génétique des membres de la famille d'une petite Canadienne

de 5 ans décédée de sitostérolémie a révélé que deux de ses frères (âgés de 3 et 4 ans) et son cousin (âgé de 8 ans) étaient eux aussi atteints. Ils ne présentaient aucun symptôme, alors qu'elle avait une anémie associée à des xanthomes. Le phénotype de ces enfants est différent alors qu'ils sont tous homozygotes pour la mutation S107X sur le gène *ABCG8* qui code pour un codon stop et donc une protéine tronquée à plus de 80 % <sup>23</sup>.

#### D. Modèles animaux

Les modèles animaux permettent l'étude de la physiopathologie, des différentes présentations cliniques et des marqueurs biologiques qui leur sont associés. Dans le cadre de la sitostérolémie, deux types de modèles sont disponibles : les modèles spontanés et les modèles créés.

##### 1. Modèles spontanés

###### a) Rats WKY, SHR et SHRSP

Les rats WKY (Wistar Kyoto inbred), SHR (spontaneously hypertensive rat) et SHRSP (stroke-prone spontaneously hypertensive rat) sont des modèles spontanés pour l'étude de la sitostérolémie. Ces lignées sont à l'origine utilisées pour l'étude de l'hypertension artérielle. La lignée SHRSP dérive de la lignée SHR, qui elle-même a pour origine la lignée WKY inbred. Au sein de ces 3 lignées, on a pu doser des taux de sitostérol comparables à ceux des patients atteints de sitostérolémie. Dans ces trois lignées, il y a transversion d'une guanine par une thymine dans l'exon 12 du gène *Abcg5* sur le nucléotide 1754. La mutation sur le codon 583 change une glycine pour une cystéine au niveau de la boucle extracellulaire entre le cinquième

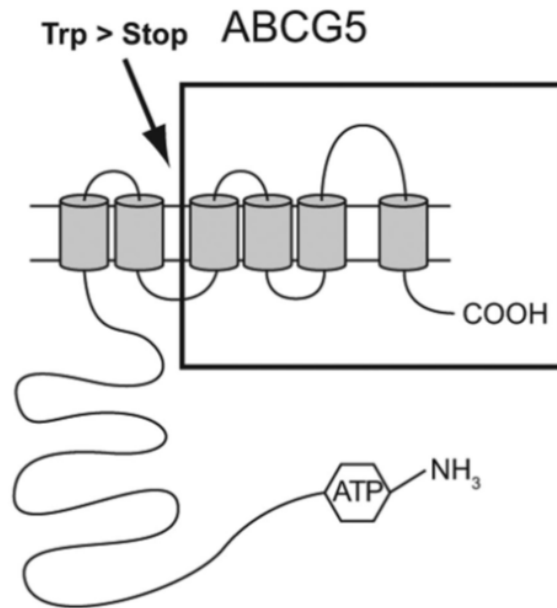


et le sixième domaine transmembranaire de la protéine ABCG5. Il s'agit donc d'une mutation faux sens<sup>24</sup>. On ne connaît pas exactement l'impact de cette mutation sur la protéine ABCG5, on sait juste que cette protéine est bien exprimée à la membrane apicale des entérocytes et des hépatocytes<sup>25</sup>.

#### b) *Souris TRAC*

La souris TRAC (thrombocytopenia and cardiomyopathy) est un des modèles spontanés pour l'étude de la sitostérolémie. Cliniquement elle présente une thrombopénie et une cardiomyopathie. Ces souris ont un taux de plaquettes vingt fois inférieur et un volume moyen plaquettaire (VMP) 3 fois supérieur à celui des souris témoins. Le temps de saignement est de 78,2 secondes chez les témoins et supérieur à 300 secondes chez les souris *trac/trac*. Le taux de sitostérol plasmatique est 130 fois plus élevé chez ces souris que chez les témoins ; le stigmastérol, le brassicastérol, et le campestérol sont eux aussi significativement élevés. Les taux de cholestérol libre ne sont pas modifiés par rapport aux témoins. La mutation *trac* est une substitution d'une guanine par une adénine dans l'exon 10 du gène *Abcg5*. La mutation remplace un codon UGG tryptophane (Trp) chez la souris sauvage (+/+) par un codon stop UGA chez une souris mutante (*trac/trac*). Il s'agit donc d'une mutation non-sens. La protéine ABCG5 normale chez la souris est composée de 652 acides aminés et contient 6 domaines transmembranaires. Le codon stop introduit par la mutation *trac* au niveau de l'acide aminé 462 va tronquer la protéine après le second domaine transmembranaire et éliminer 190 acides aminés contenant 4 domaines transmembranaires supplémentaires<sup>26</sup> (voir figure 9).





**Figure 9** - Représentation de la protéine ABCG5 chez les souris *trac* <sup>26</sup>

La mutation change un codon tryptophane en un codon stop ce qui va conduire à une protéine ABCG5 tronquée. La partie tronquée de la protéine est représentée dans le cadre noir.

## 2. Modèles créés

### a) Souris déficientes pour ABCG5 et/ou ABCG8

La modification de l'expression des gènes *Abcg5* et *Abcg8* au niveau de leurs différents lieux d'expression, a permis de mieux comprendre la physiologie humaine et la physiopathologie de la sitostérolémie. Dans un premier temps, des souris déficientes en stérolines dans le foie et l'intestin ont été obtenues en invalidant le gène *Abcg5* seul, ou le gène *Abcg8* seul, ou les deux simultanément. Puis, plus récemment, des souris déficientes pour les gènes *Abcg5* ou *Abcg8* spécifiquement dans le foie ou dans l'intestin ont été créées. Par la suite, des vecteurs adénoviraux ont été utilisés pour augmenter ou restaurer l'activité hépatique de *Abcg5* et *Abcg8* <sup>27</sup>.

Les souris *Abcg5/Abcg8* double KO (knockout) ont été obtenues par manipulations génétiques. Lorsque ces souris ont une alimentation riche en stérols végétaux, cela s'avère extrêmement toxique pour elles, ce qui n'est pas le cas pour les souris *Abcg5* et *Abcg8* sauvages. L'accumulation de stérols végétaux dans les tissus entraîne notamment une mort prématurée, des lésions cardiaques, des atteintes hépatiques, et une hépatosplénomégalie chez les souris *Abcg5/Abcg8* KO <sup>28</sup>.

*b) Souris surexprimant ABCG5 et ABCG8*

Un modèle de souris qui surexprime les protéines ABCG5 et ABCG8 a été développé afin de mieux comprendre les différents rôles de ces deux protéines. Des vecteurs avec des fragments d'ADN de 90-kb contenant les deux gènes humains *ABCG5* et *ABCG8* ont été injectés dans des ovocytes fertilisés de souris. Chez ces souris, on retrouve un taux biliaire de cholestérol multiplié par cinq par rapport aux souris témoins, une diminution de 50 % de l'absorption de cholestérol alimentaire par rapport aux souris témoins, une diminution des taux de sitostérol et de campestérol considérable par rapport aux souris témoins <sup>29</sup>.

### III. Présentations cliniques de la sitostérolémie

#### A. Xanthomes et xanthélasmas

##### 1. Généralités

Les xanthomes peuvent constituer le symptôme d'une maladie générale du métabolisme lipidique. Ils se présentent sous la forme de néoformations cutanées, brun-jaunâtre, dysmétaboliques bénignes. Elles correspondent à une infiltration cutanée par des histiocytes macrophages spumeux, remplis de gouttelettes lipidiques. La coloration jaune de ces lésions n'est pas toujours évidente (la vitropression la met cependant presque toujours en évidence).

Les xanthélasmas débutent sur l'angle des paupières supérieures et inférieures par des papules molles, pouvant confluer en nappes jaunâtres. Ils sont souvent bilatéraux et symétriques. Dans un premier temps les xanthomes s'accompagnent d'une réaction inflammatoire, ensuite les cellules xanthomateuses sont majoritaires, puis en vieillissant les lésions deviennent fibreuses <sup>30</sup>.

##### 2. Cas de la sitostérolémie

Au cours de la sitostérolémie, ces lésions cutanées profondes sont localisées, principalement, dans la région du tendon d'Achille, des extenseurs des doigts, des coudes et des genoux (voir figure 10). Elles sont indolores et mobiles sous la peau. L'échographie peut permettre de les dépister et de suivre leur évolution.

Chez les enfants, dans la sitostérolémie contrairement à l'hypercholestérolémie familiale, les xanthomes ne sont que rarement retrouvés.

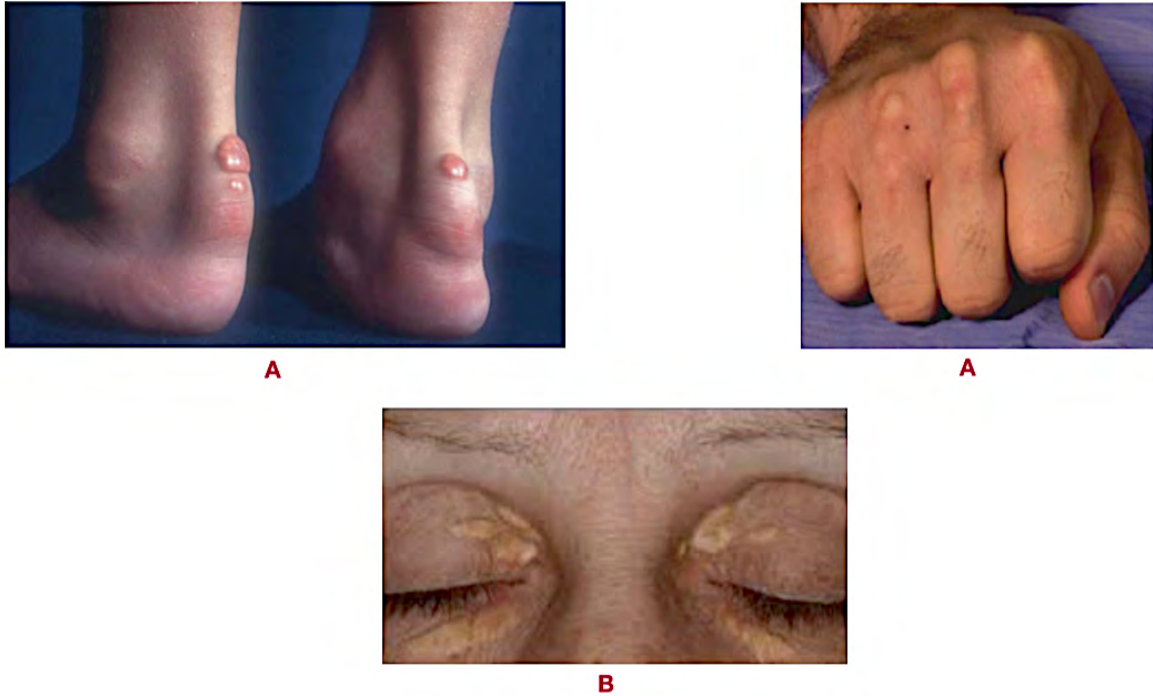


Figure 10 - Xanthomes (A) et Xanthélasmas (B) <sup>3</sup>

Pour des taux circulants de cholestérol similaires, la xanthomatose est plus fréquente chez les patients atteints de sitostérolémie que chez ceux atteints d'hypercholestérolémie. Pour entraîner l'apparition de xanthomes, le taux plasmatique des stérols végétaux doit atteindre 30 à 40 mg/dL, alors que le taux de cholestérol doit s'élever en général au-dessus de 400 mg/dL. Ces résultats corroborent l'hypothèse d'une forte cytotoxicité des sitostérols sur l'endothélium vasculaire en comparaison avec le cholestérol <sup>15,31</sup>.

Les xanthomes et les xanthélasmas sont associés à un risque plus élevé de maladie cardio-vasculaire et à une diminution de l'espérance de vie moyenne <sup>32,33</sup>.

### 3. Diagnostic différentiel

Les autres causes de xanthomes sont :

- Les hypercholestérolémies familiales sévères qui s'accompagnent fréquemment de xanthomes et de xanthélasmas. Un taux plasmatique de cholestérol total normal, ou discrètement augmenté, va permettre d'éliminer l'hypercholestérolémie familiale. Le diagnostic différentiel est plus difficile chez les patients pédiatriques. Dans les hypercholestérolémies le LDL-C est à des taux élevés alors que ce n'est généralement pas le cas dans la sitostérolémie (sauf chez certains enfants).
- La xanthomatose cérébro-tendineuse, conséquence de mutations du gène de la stérol 27-hydroxylase mitochondriale (gène *CYP27A1*), enzyme catalysant la première étape de la synthèse des acides biliaires avec, pour conséquence, un excès de cholestanol. Le tableau clinique retrouve dès la période néonatale, une cataracte, une diarrhée chronique, des xanthomes et des manifestations neuropsychiatriques. Au cours de la sitostérolémie, il n'y a pas de cataracte ni de symptômes neurologiques, ce qui permet d'éliminer la xanthomatose cérébro-tendineuse.
- La maladie de Tangier est due à une anomalie de la protéine membranaire ABCA1 permettant le passage du cholestérol intra-tissulaire vers le milieu sanguin pour être capté par les HDL. Les xanthomes sont dus à l'accumulation de cholestéryl esters. Dans le sang on trouve des taux anormalement bas de cholestérol et de HDL, associés à une hypertriglycéridémie.

## B. Athérosclérose

### 1. Formation de la plaque d'athérome par les phytostérols

Les patients atteints de sitostérolémie n'éliminent que très peu les phytostérols qui s'accumulent dans le sang. L'accumulation de phytostérols dans les lipoprotéines plasmatiques facilite leur dépôt dans la paroi artérielle qui devient alors inflammatoire. L'inflammation va attirer des monocytes de la circulation sanguine. Les monocytes devenus macrophages vont se charger en sitostérols. Les macrophages chargés de lipides forment les cellules spumeuses qui vont participer à la formation de la plaque d'athérosclérose et sécréter des cytokines pro-inflammatoires (voir figure 11). Les monocytes qui sont alors attirés par chimiotactisme accélèrent le processus inflammatoire et vont continuer de faire progresser la plaque d'athérome<sup>15,34</sup>. Il est démontré que les plaques d'athérome des patients atteints de sitostérolémie renferment des phytostérols<sup>35</sup>.

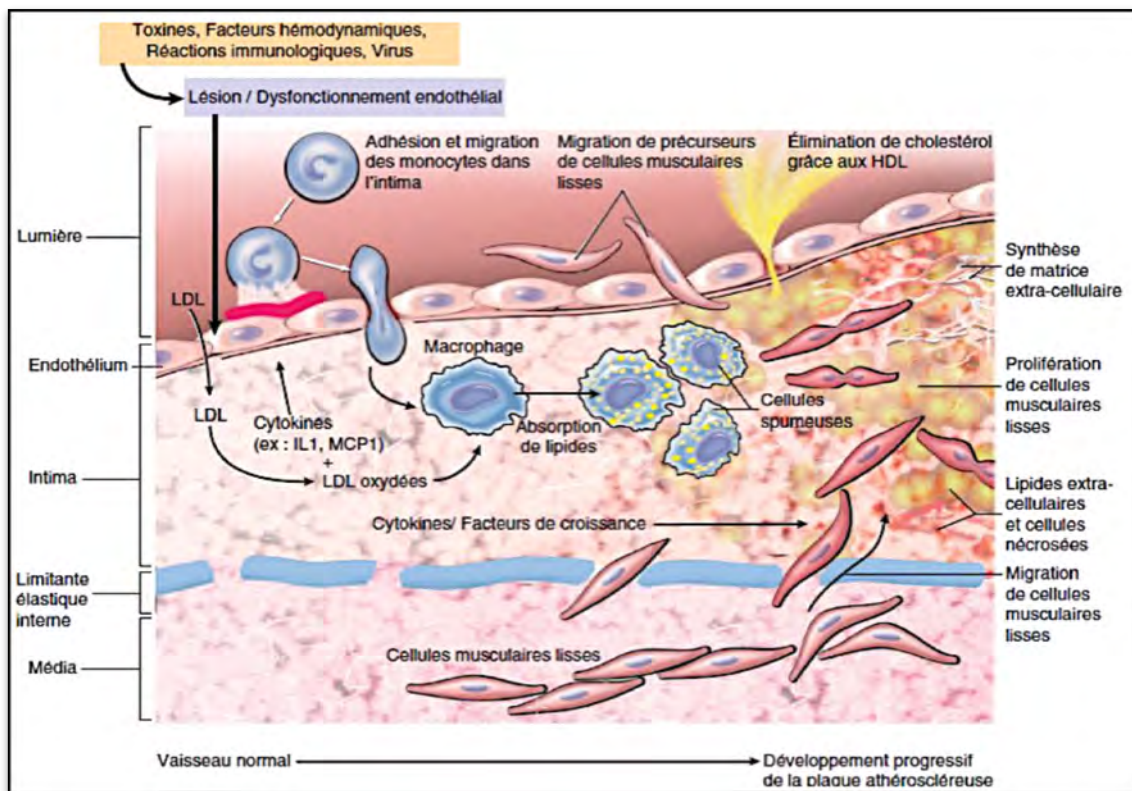


Figure 11 - Formation de la plaque d'athérosclérose <sup>36</sup>

L'hyperlipidémie et les autres facteurs de risque sont supposés entraîner des lésions de l'endothélium, ayant comme conséquence l'adhérence des plaquettes et des monocytes, la libération de facteurs de croissance (en particulier le PGDF), ce qui conduit à la migration et à la prolifération des cellules musculaires lisses. Les cellules spumeuses des plaques athéroscléroseuses dérivent à la fois des macrophages et des cellules musculaires lisses : (1) des macrophages par l'intermédiaire des récepteurs des VLDL (lipoprotéines de très basse densité), et des récepteurs éboueurs reconnaissant des LDL (lipoprotéines de basse densité) modifiées (par ex. des LDL oxydées) ; (2) des cellules musculaires lisses grâce à des mécanismes plus mal connus. Les lipides extracellulaires proviennent de la lumière du vaisseau (phénomène d'« insudation »), particulièrement en présence d'une hypercholestérolémie, et aussi de la dégradation de cellules spumeuses. L'accumulation du cholestérol dans la plaque est la conséquence d'un déséquilibre entre ses entrées et ses sorties, et il est possible que les lipoprotéines de haute densité (HDL) puissent aider à éliminer le cholestérol de ces amas. Les cellules musculaires lisses migrent vers l'intima, se multiplient et produisent des constituants de la matrice extracellulaire, notamment du collagène et des protéoglycanes.

## 2. Conséquences de l'athérosclérose

L'athérosclérose va induire une augmentation du risque d'accidents cardiovasculaires précoces par rupture des plaques d'athérome, et cela malgré une concentration en cholestérol proche de la normale chez certains patients. Dix cas de malades atteints de sitostérolémie avec une athérosclérose précoce (entre 5 et 33 ans) avec ou sans mort subite sont publiés <sup>37</sup>.

La rupture d'une plaque coronaire est la principale cause d'infarctus du myocarde et de décès. L'augmentation du risque cardiovasculaire a été décrite chez des patients de bas âge, notamment, le cas d'un enfant de 5 ans décédé suite à un arrêt cardiaque est décrit dans la littérature<sup>23</sup>.

L'élévation du cholestérol plasmatique et celle des taux de phytostérols peuvent toutes deux contribuer à l'apparition précoce de maladie cardiovasculaire. Une étude a démontré que les taux élevés de stérols végétaux dans le plasma sont corrélés à de plus larges plaques d'athérome, ce qui ne peut pas être expliqué par les concentrations en cholestérol<sup>38</sup>. Le potentiel athérogène des différents stérols végétaux n'est pas clairement élucidé.

### C. Arthralgies

La littérature décrit de manière récurrente la survenue d'arthralgies au niveau des genoux et des chevilles chez de nombreux patients. Pour autant la physiopathologie de l'arthralgie au cours de la sitostérolémie n'est pas élucidée. Un traitement par antalgiques classiques est généralement suffisant pour traiter les patients souffrant d'arthralgie.

### D. Atteinte des globules rouges et des plaquettes

Les anomalies hématologiques seraient présentes chez 25 à 35 % des patients atteints de sitostérolémie. Elles sont généralement associées aux présentations cliniques caractéristiques habituelles de la sitostérolémie (70 % des cas)<sup>6</sup>.



Les protéines ABCG5 et ABCG8 ne sont pas présentes dans les globules rouges ni dans les plaquettes. Une absorption de stérols végétaux par les globules rouges à partir de la circulation générale est l'hypothèse généralement avancée pour expliquer les anomalies morphologiques et fonctionnelles de ces cellules chez les patients atteints de sitostérolémie <sup>6</sup>.

La structure des stérols végétaux est très similaire à celle du cholestérol. Ils diffèrent, par exemple, seulement par la présence en plus d'un groupement éthyl pour le sitostérol ou d'un méthyl pour le campestérol sur la chaîne latérale en C24 du cholestérol (voir figure 1). Cette analogie structurale permet aux stérols végétaux d'être incorporés dans les membranes lipidiques cellulaires chez les patients atteints de sitostérolémie <sup>39</sup>.

Les principales anomalies hématologiques décrites dans la littérature chez les patients atteints de sitostérolémie sont l'anémie hémolytique, l'anémie par carence martiale, la présence de stomatocytes sur le frottis sanguin, la macrothrombocytopénie, des saignements anormaux et une splénomégalie <sup>31,40</sup>. La littérature recense aussi quelques cas de patients qui présentent une thrombocytose. L'association stomatocytes et macrothrombocytopénie est décrite en Australie dans la sitostérolémie chez des migrants méditerranéens <sup>41,42</sup>.

Il est très important d'insister sur le fait que des signes cliniques hématologiques avec des paramètres hématologiques anormaux peuvent être les seuls signes d'une sitostérolémie. Ce qui tend à montrer que la sitostérolémie est une maladie bien plus fréquente que ce que l'on pense, puisque de nombreux patients semblent ne pas être diagnostiqués <sup>6</sup>. Pour autant, de nombreux patients atteints de sitostérolémie n'ont aucune atteinte hématologique. Il sem-

blerait que l'expression dépende du gène atteint, ce qui modifierait directement ou indirectement, par différentes voies, la structure des globules rouges et des plaquettes. La macrothrombocytopénie est associée à 21 mutations décrites pour les gènes *ABCG5* et *ABCG8*.

L'association d'une anémie hémolytique inexplicée à la présence de stomatocytes et d'une macrothrombopénie doit absolument faire évoquer le diagnostic de sitostérolémie <sup>6</sup>.

Des données récentes en hématologie ont montré que l'augmentation du nombre de plaquettes et la diminution de leur taille réduisent potentiellement la tendance à saigner au cours de la sitostérolémie <sup>43</sup>.

#### E. Calculs biliaires

Les xénostérols, au cours de leur élimination, vont être concentrés dans la bile. Si leur concentration est trop importante de manière prolongée, ils peuvent conduire à la formation de calculs biliaires. La présence de calculs biliaires s'accompagne d'un état inflammatoire prolongé local, qui engendre la formation d'agents génotoxiques qui peuvent conduire à un processus d'oncogénèse.

Le cancer de la vésicule biliaire est une maladie rare. Il a une faible incidence en France avec des taux inférieurs à 5 pour 100 000 habitants. Mais, le variant D19H du gène *ABCG8* est une des causes reconnues de cancer de la vésicule biliaire <sup>27</sup>.

## F. Splénomégalie

La splénomégalie est fréquemment décrite dans la littérature chez les patients atteints de sitostérolémie. Elle est vraisemblablement due à l'anémie<sup>31,40</sup>. La splénectomie a permis à certains patients de réduire significativement leur anémie<sup>20</sup>.

## G. Insuffisance hépatique

Le premier cas d'insuffisance hépatique chez un patient atteint de sitostérolémie a été considéré comme un cas isolé anecdotique, une coïncidence. Mais la gravité clinique a obligé l'équipe médicale à proposer la greffe hépatique pour ce patient<sup>44</sup>. Par la suite, les médecins se sont rendu compte que la greffe a permis de réduire les taux plasmatiques de phytostérols.

Un deuxième cas a été rapporté d'un patient avec une cirrhose idiopathique pour qui la greffe cardiaque a été refusée. Puis, au cours de l'évolution clinique, on s'est rendu compte que l'ensemble de ses symptômes étaient dus à une maladie : la sitostérolémie.

Il semblerait que ce soit l'accumulation de xénostérols qui conduise à un état inflammatoire chronique et engendre la maladie hépatique<sup>6</sup>.

## IV. Diagnostic biologique de la sitostérolémie

### A. Dosages de routine

#### 1. Biochimie

##### *a) Exploration d'une anémie*

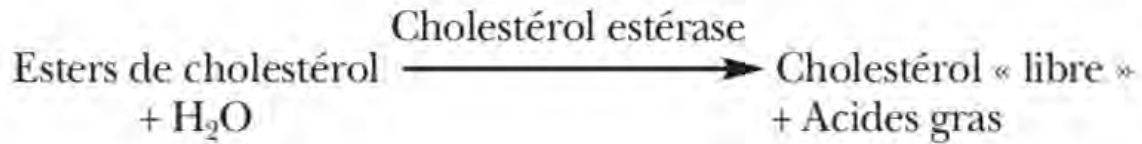
Le bilan biochimique de routine va permettre d'explorer l'anémie microcytaire par le dosage de la ferritine, de la transferrine, et de la protéine C réactive. Le bilan d'hémolyse comprend les dosages de la bilirubine libre sérique, de la kaliémie, de l'haptoglobine, de la lactate déshydrogénase.

##### *b) Exploration lipidique*

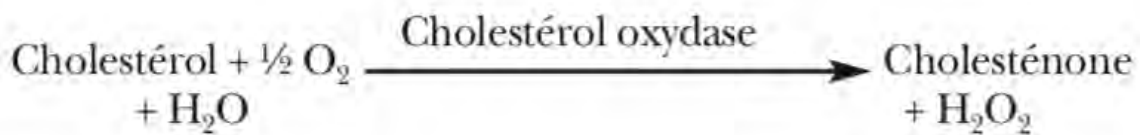
Les recommandations pré-analytiques pour le dosage du bilan lipidique sont : un jeûne strict de 12 heures, un dosage à distance d'une affection ou d'un traitement susceptible de modifier le taux de cholestérol. La méthode de référence est la chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire. Cependant, la méthode de dosage colorimétrique enzymatique représente 99,6 % des techniques de dosage employées dans les laboratoires d'analyses médicales en France.

Le cholestérol total correspond non seulement au cholestérol non estérifié (cholestérol « libre ») dans l'enveloppe externe des lipoprotéines, mais aussi au cholestérol estérifié du cœur hydrophobe des lipoprotéines. Par conséquent, le dosage du cholestérol

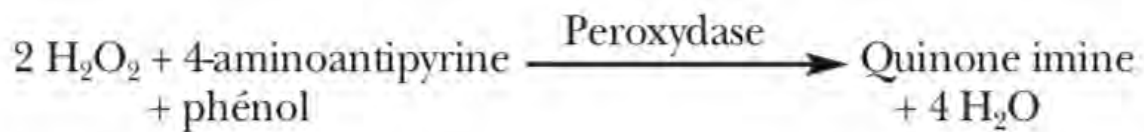
total implique tout d'abord une hydrolyse des esters du cholestérol par la cholestérol estérase.



Le cholestérol non estérifié est ensuite oxydé par la cholestérol oxydase, avec formation concomitante de peroxyde d'hydrogène.



Le peroxyde d'hydrogène est ensuite quantifié par la réaction de Trinder ; celle-ci implique un substrat chromogène de la peroxydase, la 4-amino-antipyrine.



Le produit réactionnel (quinone imine) peut être dosé par colorimétrie en fonction du temps de la réaction (cinétique) ou au terme de celle-ci (point final) : c'est cette dernière approche qui est généralement choisie car elle est plus précise et moins coûteuse en réactifs.

Le dosage enzymatique colorimétrique ne permet pas de différencier les stérols végétaux du cholestérol. Chez les patients atteints de sitostérolémie, c'est l'ensemble cholestérol/stérols végétaux qui est réellement dosé. C'est pour cela qu'il y a bien souvent une fausse hypercholestérolémie chez les patients qui sont atteints de sitostérolémie.

Les patients atteints de sitostérolémie hyper-absorbent le cholestérol, ils ont des taux de cholestérol sérique qui sont généralement élevés <sup>45,46</sup>. Cela peut aller jusqu'à des taux pouvant atteindre 1000 mg/dL soit 24 mmol/L chez certains enfants malades <sup>6</sup>. Tout ceci semble être expliqué par l'immaturation de l'absorption intestinale, les taux élevés de cholestérol dans la nourriture pour enfants et dans le lait humain. Le taux de cholestérol total dans le sérum de patients atteints de sitostérolémie (avec une mutation homozygote) est très variable avec des taux parfois normaux ou très élevés <sup>47,48</sup>.

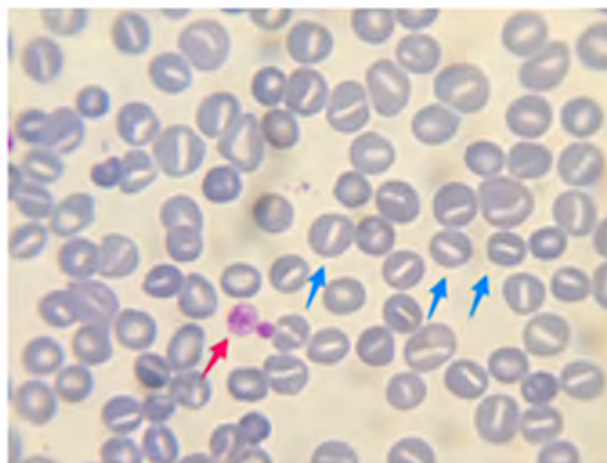
Il existe cependant une donnée paradoxale entre les taux élevés de cholestérol chez les enfants et les taux normaux retrouvés chez les adultes atteints de sitostérolémie.

## 2. Hématologie

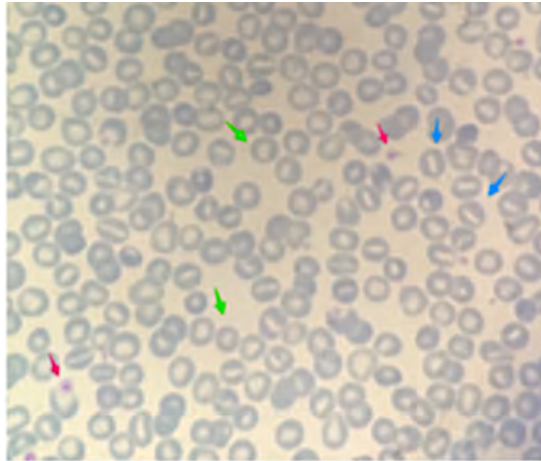
### *a) Cytologie*

L'hémogramme et le frottis sanguin sont deux analyses de biologie médicale répandues dans tous les laboratoires d'analyses médicales partout dans le monde. Ils sont réalisables sur une matrice biologique simple à obtenir. Ce sont des analyses simples, rapides et de faible coût. A elles seules, ces deux analyses permettent d'avoir une bonne orientation diagnostique pour les cas de sitostérolémie avec atteintes hématologiques.

Une anémie hémolytique ou une anémie par carence martiale sont fréquemment rapportées dans la littérature scientifique. La quantité d'hémoglobine est donc généralement diminuée sur l'hémogramme. Le frottis sanguin permet d'observer la présence de nombreux stomatocytes. Ces cellules ont la taille et la forme des globules rouges normaux mais une pâleur centrale les coupe en deux, ce qui leur donne l'aspect d'une bouche. La stomatocytose peut être résolutive après mise sous traitement des patients atteints de sitostérolémie (voir figures 12 et 13). Les stomatocytes ne sont pas spécifiques à la sitostérolémie. Ils sont présents dans d'autres situations comme : le syndrome rhésus faible, la maladie de Tangier, le déficit en LCAT (ou lécithine-cholestérol acyltransférase)<sup>49</sup>, la stomatocytose héréditaire ou encore l'alcoolisme, les maladies hépatobiliaires, les cancers et les maladies cardiaques<sup>50</sup>.



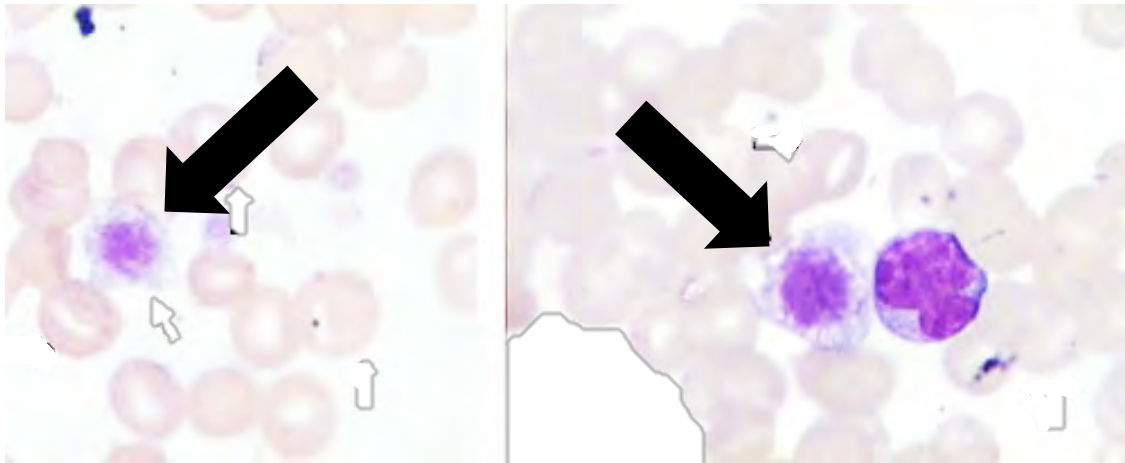
**Figure 12** - Présence de nombreux stomatocytes (flèches bleues) sur un frottis sanguin d'un patient avant traitement<sup>38</sup>



**Figure 13** - Disparition des nombreux stomatocytes (les flèches bleues indiquent quelques stomatocytes restant) sur le frottis sanguin d'un patient après traitement <sup>38</sup>

La macrothrombocytopénie est fréquemment décrite au diagnostic de la maladie chez les patients. L'hémogramme permet de révéler une thrombopénie modérée, avec un volume moyen plaquettaire (ou VMP) augmenté qui témoigne de la taille augmentée des plaquettes. Sur le frottis, le biologiste peut vérifier l'absence d'agrégats plaquettaires et facilement observer la présence de plaquettes géantes. Les plaquettes géantes sont généralement rondes, ont un diamètre supérieur à 5 $\mu$ m, leur membrane est mal délimitée ; elles renferment des granulations groupées en position centrale ou dispersées dans le cytoplasme (voir figure 14). La sitostérolémie est fréquemment confondue avec d'autres causes de thrombopénies, comme le purpura thrombopénique idiopathique ou PTI, le syndrome d'Evans, ou encore une thrombopénie secondaire à une arthrite. Cette erreur de diagnostic peut logiquement conduire le médecin à l'utilisation d'un traitement par corticoïdes, qui va s'avérer inefficace.





*Figure 14 - Présence de plaquettes géantes sur le frottis sanguin d'un patient atteint de sitostérolémie <sup>31</sup>*

Le frottis de sang périphérique permet ainsi la mise en évidence d'une anomalie sur la lignée plaquettaire et d'une anomalie sur la lignée érythrocytaire. Cette technique diagnostique semble s'imposer comme un élément essentiel pour faciliter le dépistage précoce de la sitostérolémie par le clinicien.

#### *b) Hémostase*

L'exploration d'un saignement chez des patients avec un saignement sans allongement du TCA se fait par un test d'agrégation plaquettaire (avec de l'ADP et avec de la ristocétine) et par cytométrie en flux pour mesurer les glycoprotéines plaquettaires GpIb-IX-V et GpIIb/IIIa. Chez les patients atteints de sitostérolémie, aucune anomalie n'est retrouvée sur aucun de ces tests d'exploration de l'hémostase.

Des chercheurs ont décrit une diminution de la réactivité de la réponse plaquettaire chez les modèles animaux de sitostérolémie, alors que d'autres décrivent une hyperactivation plaquettaire ou une diminution de l'expression de  $\alpha II\beta 3$  <sup>51</sup>.

### c) *Diagnostic différentiel*

L'association d'une hémolyse avec une thrombopénie peut être facilement confondue avec d'autres pathologies, comme les atteintes hépatiques, le purpura thrombotique thrombocytopénique ou encore le lupus érythémateux disséminé. Mais dans ces atteintes, les plaquettes géantes ne sont pas présentes sur le frottis sanguin.

## B. Dosages spécifiques

### 1. Dosage des stérols végétaux

Le dosage des stérols végétaux est plus spécifique dans le diagnostic de la sitostérolémie que le dosage du cholestérol par méthode colorimétrique enzymatique. Il dose de manière spécifique (dosage à la fois quantitatif et qualitatif) les différents stérols. Pour cela, différentes méthodes de dosages peuvent être utilisées, comme la chromatographie en phase gazeuse, couplée ou non à la spectrométrie de masse, la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire.

Les concentrations plasmatiques normales sont, pour :

- Le sitostérol : inférieures à 10  $\mu\text{M}$ ,
- Le campesterol : inférieures à 3  $\mu\text{M}$ ,
- Le  $\beta$ -cholestanol : comprises entre 2,2 et 12,6  $\mu\text{M}$ ,
- Le cholestérol : comprises entre 1,7 et 6,6 mM<sup>51</sup>.

Chez les individus atteints de sitostérolémie, on retrouve des taux élevés de sitostérol et campestérol notamment, mais aussi des phytostérols saturés comme par exemple le cholestanol, le 5 $\alpha$ -campestanol, ou le 5 $\alpha$ -sitostanol qui sont synthétisés chez les patients à partir de leurs précurseurs insaturés.

Les concentrations plasmatiques de sitostérols supérieures à 1 mg/dL (soit environ 24  $\mu$ M) sont considérées comme suffisantes pour le diagnostic. Au diagnostic, les concentrations plasmatiques de sitostérol sont comprises en général entre 8 et 60 mg/dL soit entre 193  $\mu$ M et 1446  $\mu$ M. Les patients ont en général des taux 10 à 25 fois plus élevés que ceux de la population normale <sup>37</sup>.

Une étude réalisée en Amérique du nord chez les personnes qui ont une alimentation dite « vegan », ou végétalisme intégral, retrouve une concentration moyenne plasmatique en sitostérol de 0,331 mg/dL soit 7,94  $\mu$ M, et une concentration moyenne plasmatique en campestérol de 0,378 mg/dL soit 9,4  $\mu$ M <sup>52</sup>.

La publication de Unilever R&D Vlaardingen à propos de 2084 personnes retrouve une concentration plasmatique moyenne en sitostérol de 6,92  $\mu$ M avant consommation de produits enrichis en stérols végétaux. Après consommation de produits enrichis en stérols végétaux (à raison de 1,6 g/jour de stérols végétaux), la concentration plasmatique moyenne en sitostérol est de 9,29  $\mu$ M ; soit une augmentation moyenne significative de 2,24  $\mu$ M par rapport aux témoins <sup>53</sup>.

Il est à noter que les concentrations plasmatiques en stérols végétaux dans ces deux populations restent nettement inférieures à celles retrouvées chez les patients atteints de sitostérolémie.

Le dosage des stérols végétaux est indiqué chez :

- Les patients ayant des xanthomes et un cholestérol plasmatique normal.
- Les patients avec une forte diminution du taux de cholestérol plasmatique en réponse à une alimentation pauvre en cholestérol et/ou des séquestrants des acides biliaires ou des inhibiteurs de l'absorption du cholestérol.
- Les patients avec régression des xanthomes, notamment avec une nette amélioration des taux de cholestérol.
- Les patients hypercholestérolémiques avec une mauvaise réponse aux statines.
- Les patients avec une anémie hémolytique associée à macrothrombopénie <sup>45</sup>.

Des résultats faussement positifs ont été obtenus chez :

- Des enfants en bas âge sains, nourris avec des préparations commerciales pour bébés (qui contiennent des stérols végétaux), peuvent avoir une augmentation transitoire des taux de stérols végétaux dans le plasma. Ce qui s'explique probablement par l'immaturation des transporteurs chez les nourrissons.
- Des patients avec une cholestase ou une atteinte hépatique qui sont sous nutrition parentérale (qui contient des stérols végétaux) peuvent être incapables d'éliminer efficacement les stérols végétaux.
- Les porteurs sains hétérozygotes pour la sitostérolémie peuvent ponctuellement avoir des taux plasmatiques de sitostérol légèrement élevés alors que ces concentrations sont habituellement normales chez ces personnes <sup>37</sup>. Ces taux restent cependant plus faibles que ceux des patients homozygotes <sup>54</sup>.

Des résultats faussement négatifs ont été obtenus chez :

- Des personnes qui sont traitées par ezetimibe ou une association de médicaments contenant de l'ezetimibe ou des séquestrants biliaires.
- Des personnes qui ont un régime alimentaire pauvre en dérivés végétaux.

Le suivi des patients s'effectue par dosage spécifique des phytostérols plasmatiques une à deux fois par an. L'objectif est que le taux de phytostérols demeure  $< 1 \text{ mg/dL}$  (soit inférieur à  $24 \text{ }\mu\text{M}$  c'est-à-dire pratiquement inférieur au seuil de détection) <sup>45</sup>. Le dosage des stérols végétaux doit être proposé chez les apparentés au premier degré des patients atteints de sitostérolémie.

## 2. Analyse mutationnelle et conseil génétique

### a) *Analyse mutationnelle par biologie moléculaire*

La sitostérolémie est une maladie autosomique récessive. Une maladie est transmise selon le mode autosomique récessif si le gène en cause est porté par un autosome et si la présence de deux allèles mutés du gène est nécessaire pour que la maladie se manifeste. Les malades sont homozygotes pour le gène en cause.

Les gènes *ABCG5* et *ABCG8* sont situés sur le chromosome 2p21, c'est-à-dire sur la bande 1 de la région 2 sur le bras court du chromosome 2. Chacun de ces gènes est constitué

de 13 exons. Il existe plus de polymorphismes pour le transporteur ABCG8 que pour le transporteur ABCG5<sup>38</sup>. Il existe 29 variants du gène ABCG5 et 34 variants du gène ABCG8 à ce jour, seulement 8 d'entre eux ont été retrouvés chez plusieurs patients (voir figure 15).

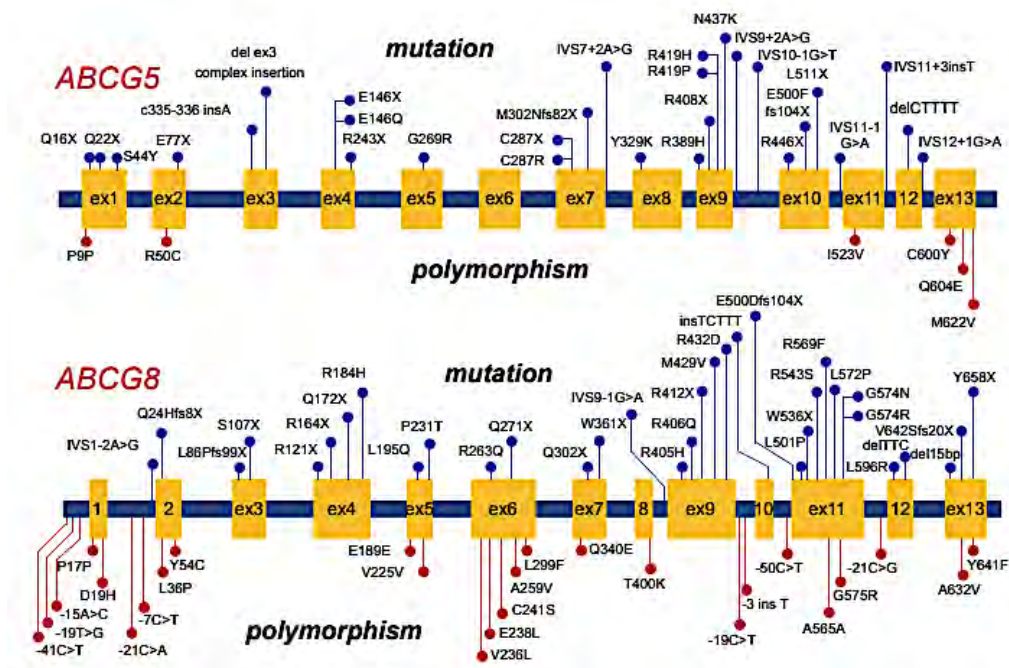


Figure 15 - Représentation schématique des 13 exons de ABCG5 et ABCG8, de leurs polymorphismes et de leurs mutations<sup>55</sup>

Les 13 exons de ABCG5 sont représentés sur le panel supérieur tandis que ceux de ABCG8 sur le panel inférieur. Dans les deux cas, les mutations pathogènes sont représentées au-dessus en bleu alors que les polymorphismes sont représentés en-dessous en rouge.

Seulement 11 variants sur 29 pour ABCG5 et 10 variants sur 34 pour ABCG8 sont associés à une macrothrombocytopénie. Seulement 6 variants pathologiques du gène ABCG5 sont retrouvés chez plusieurs patients<sup>51</sup>.

Sur la centaine de cas de sitostérolémie qui ont été décrits, on retrouve :

- 36 % de mutations sur *ABCG5* (homozygotes ou hétérozygotes composites),
- 64 % de mutations sur *ABCG8* (homozygotes ou hétérozygotes composites) <sup>38</sup>.

Chez les patients d'origine caucasienne, l'analyse génétique révèle en général des mutations qui touchent le gène *ABCG8*. Chez les patients d'origine chinoise, japonaise et indienne, l'analyse génétique révèle en général des mutations qui touchent le gène *ABCG5* <sup>6</sup>.

La littérature répertorie des mutations non-sens, des mutations décalantes ou des mutations qui affectent les sites d'épissage, ce qui conduit ensuite à des protéines tronquées. Il existe aussi des mutations non-sens qui empêchent la formation d'un exporteur hétérodimérique *ABCG5/ABCG8* stable ou qui empêchent l'adressage à la membrane après la sortie du réticulum endoplasmique <sup>51</sup>.

Les variants pathogènes des gènes *ABCG5* et *ABCG8* affectent la fonction des stérolines et prédisposent à l'hyperabsorption et à l'accumulation plasmatique des stérols végétaux <sup>1,6</sup>.

#### *b) Conseil génétique*

Comme pour toutes les maladies autosomiques récessives, il faut donc que les deux parents soient tous les deux porteurs d'une mutation sur un des allèles pour qu'un de leurs enfants soit touché par la maladie. Un couple à risque est formé par deux conjoints porteurs sains hétérozygotes (A/a). Il y a, à chaque grossesse :

- Un risque de 25 % d'avoir un enfant atteint (homozygote a/a).
- Une probabilité de 50 % d'avoir un enfant porteur sain (hétérozygote A/a) qui peut avoir un enfant atteint si, et seulement si, son conjoint est lui-même porteur sain (avec un risque de 1/4).
- Une probabilité de 25 % de donner naissance à un enfant sain (homozygote A/A) qui ne peut pas avoir d'enfant atteint <sup>56</sup> (voir figure 16).

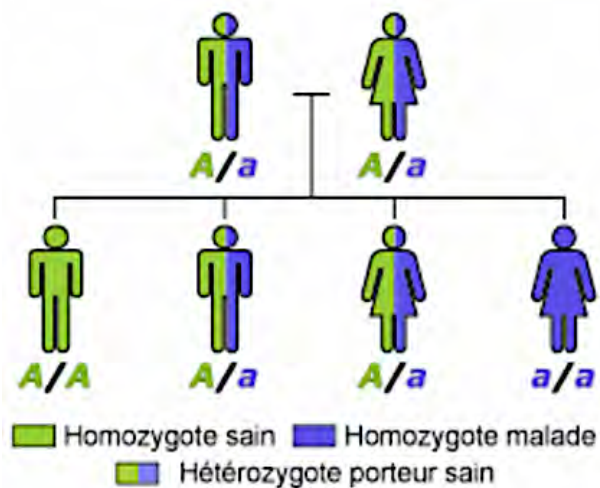


Figure 16 – Descendance d'un couple composé de deux individus porteurs sains hétérozygotes<sup>56</sup>

Lorsqu'un individu malade désire avoir un enfant, une consultation avec un médecin généticien est conseillée. Si l'individu malade est en couple avec un homozygote sain (cas le plus fréquent) le risque que l'enfant soit malade est nul. Aucun enfant ne sera malade, ils seront tous hétérozygotes, porteurs sains (voir figure 17).



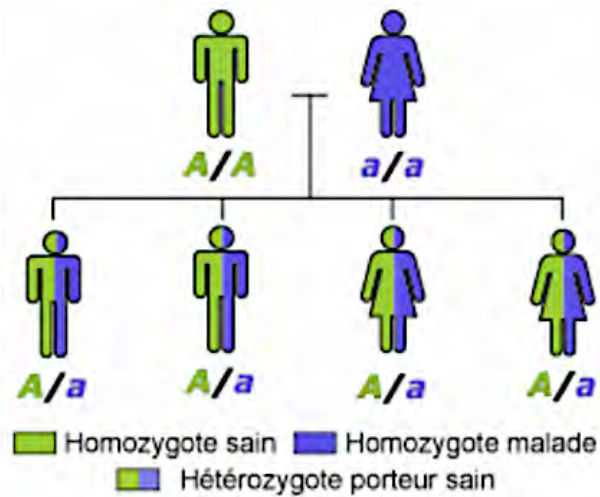


Figure 17 – Descendance d'un couple composé d'un individu homozygote malade et d'un individu homozygote sain <sup>56</sup>

Si l'individu malade est en couple avec un hétérozygote porteur sain (cas plus rare), le risque que l'enfant soit malade est de 50 %. Les autres enfants de ce couple seront tous porteurs sains de la maladie (voir figure 18).

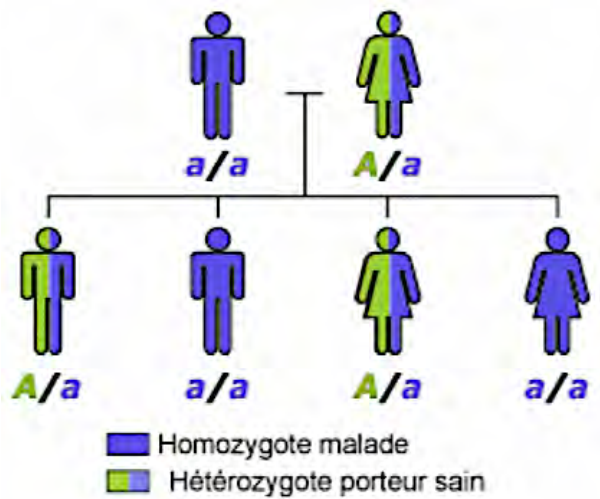


Figure 18 - Descendance d'un couple composé d'un individu homozygote malade et d'un individu hétérozygote porteur sain <sup>56</sup>

Si l'individu malade est en couple avec un autre individu malade (cas dont la probabilité est quasiment exceptionnelle), le risque que l'enfant soit malade est de 100 % (voir figure 19).

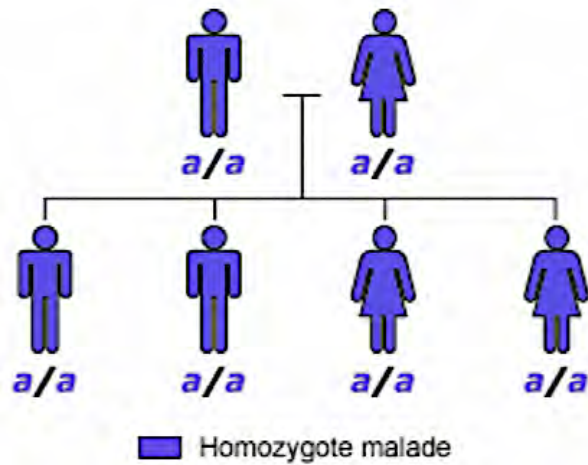


Figure 19 – Descendance d'un couple composé de deux individus homozygotes malades<sup>56</sup>

L'analyse génétique par biologie moléculaire relève en réalité de multiples indications. Elle est nécessaire pour confirmer une maladie congénitale ou héréditaire. Elle est aussi indispensable pour le conseil génétique lors de la procréation<sup>6</sup>. Le dépistage des apparentés au premier degré est essentiel afin de mettre en place une thérapeutique la plus précoce possible<sup>3</sup>. Pour cela, le dosage biologique spécifique des stérols végétaux est réalisé de manière indissociable avec l'analyse génétique.

## V. Thérapeutique

Le retard de diagnostic engendre souvent un délai important avant la bonne prise en charge des patients atteints de sitostérolémie. Les patients risquent donc d'avoir un traitement inapproprié pendant de longues années. Ce qui peut entraîner une perte de bénéfice d'un traitement médicamenteux pertinent, associé à un régime alimentaire adapté et une activité physique modérée.

### A. Régime alimentaire

#### 1. Diminution de l'apport de phytostérols

La prévention des complications cardiovasculaires doit être optimale. Pour cela, un contrôle des éventuels facteurs de risque associés à l'alimentation est indispensable. Une alimentation variée expose à plus de 60 xénostérols (stigmastérol, avénastérol, fucostérol...) <sup>27</sup>. La proportion de xénostérols absorbés est très variable selon les individus. L'absorption se fait en compétition avec le cholestérol alimentaire et va diminuer le taux de cholestérol-LDL plasmatique de 8 à 15% <sup>10</sup>.

Les produits qui contiennent des xénostérols vont être exclus au mieux de l'alimentation. Les phytostérols sont naturellement contenus dans les oléagineux et les plantes. Ils sont présents dans les huiles végétales (de maïs, de colza, de bois de pin...), les avocats, les graines, les olives, les germes de blé <sup>10</sup> ...

Les phytostérols sont estérifiés pour être incorporés dans les aliments gras. Les produits enrichis en stérols végétaux sont formellement contre-indiqués (margarines, yaourts, produits laitiers, chocolats). Ils se retrouvent aussi dans les produits laitiers, les pains, les viandes ou plus étonnamment dans les fruits de mer riches en brassicastérol (stérol végétal dérivé des algues).

## 2. Utilisation des phytostérols pour réduire l'absorption du cholestérol

Les graisses enrichies en phytostérols sont parfois utilisées pour réduire l'absorption du cholestérol. L'inhibition de l'absorption du cholestérol par les phytostérols est due à la grande similitude des propriétés physico-chimiques des phytostérols avec celles du cholestérol. Dans la lumière intestinale, avant d'être absorbé, le cholestérol se trouve en solution avec les autres corps gras. Parmi ces graisses, les monoglycérides et les acides gras sont rapidement absorbés par le duodénum, tandis que les concentrations en substances beaucoup plus difficilement absorbables, telles que les stérols, augmentent. Quand leurs concentrations atteignent un seuil critique, elles précipitent et forment des cristaux qui ne peuvent plus être absorbés par le duodénum. De par leur structure similaire, le cholestérol et les phytostérols à l'état libre sont peu solubles dans les graisses et les micelles. De plus, quand ils sont en présence l'un de l'autre, ils empêchent mutuellement leur solubilité respective. En conséquence, une augmentation importante de la quantité de phytostérols entraîne une diminution de la solubilité du cholestérol et provoque une augmentation de sa précipitation et de son excrétion fécale. L'administration des phytostérols augmente l'élimination des stérols dans les fèces.

L'inhibition de l'absorption du cholestérol diminue l'afflux du cholestérol alimentaire dans le foie. La diminution de la quantité du cholestérol hépatique entraîne une diminution de la sécrétion du VLDL-cholestérol et, en conséquence, une diminution du LDL-cholestérol. En revanche, cette diminution du cholestérol hépatique induit une augmentation de la synthèse du cholestérol hépatique pour compenser la perte du cholestérol dans les fèces. Cependant, cette compensation n'est pas totale. L'effet net et tangible de la diminution du cholestérol hépatique est la stimulation de la synthèse des récepteurs LDL, processus qui conduit à la diminution effective du taux de LDL-cholestérol circulant <sup>57</sup>.

L'omniprésence des stérols végétaux dans l'alimentation et la non complianc font qu'une modification du régime alimentaire n'est pas suffisante, à elle seule, pour traiter un patient atteint de sitostérolémie <sup>38</sup>.

## B. Cholestyramine

La cholestyramine est un médicament qui appartient à la classe des hypocholestérolémiants. Cette molécule permet d'abaisser le taux de cholestérol circulant dans le sang en augmentant son élimination par l'intestin. La posologie habituelle est d'un sachet (qui contient 4 g de cholestyramine) trois fois par jour, au moment des repas. Ce traitement doit être associé à un régime alimentaire adapté.

Ce médicament est une résine basique synthétique échangeuse d'ions (résine d'ammonium quaternaire échangeuse d'anions avec un squelette en polymère de

polystyrène). Lorsque la résine est sous forme de sel chloré, elle fixe les acides biliaires en échangeant l'ion chlorure pour de l'acide biliaire. La cholestyramine absorbe les acides biliaires et s'y associe dans l'intestin pour former un complexe insoluble qui est éliminé dans les selles <sup>58</sup>.

Le cholestérol est un précurseur des acides biliaires, qui sont sécrétés dans l'intestin au cours de la digestion, puis absorbés en très grande partie et retournés au foie lors du cycle entéro-hépatique. Ainsi, une partie des acides biliaires ne peut plus être absorbée, elle est extraite du cycle entéro-hépatique (voir figure 20).

En réponse au traitement par cholestyramine, il va alors y avoir une augmentation de la synthèse hépatique du cholestérol chez l'homme, mais malgré cela les concentrations plasmatiques de cholestérol diminuent. L'efficacité du traitement est surveillée avec la « cholestérolémie » qui doit diminuer dès le premier mois de traitement. Le dosage du cholestérol doit être réalisé fréquemment la première année, puis périodiquement par la suite.

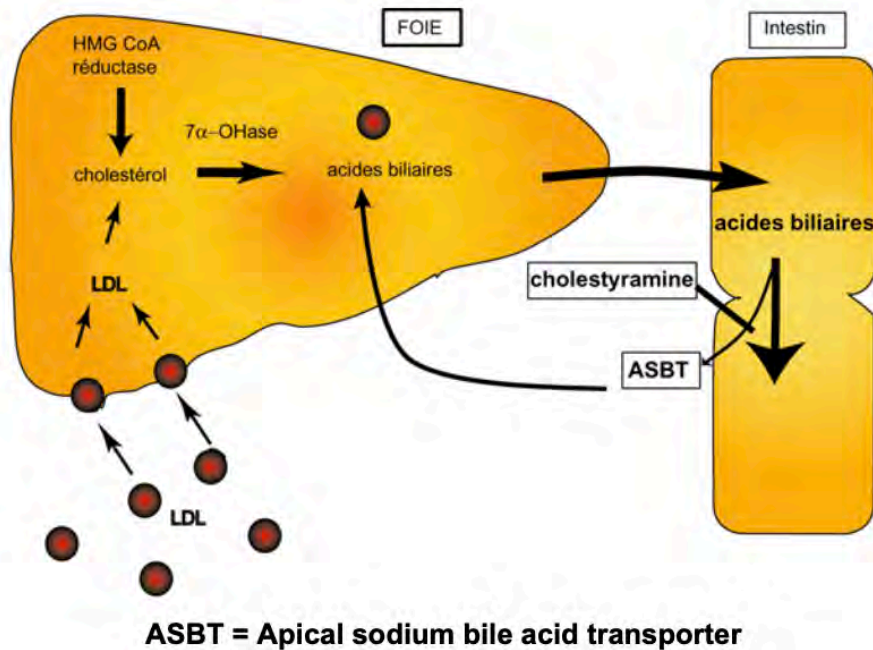


Figure 20 - Mécanisme d'action de la cholestyramine <sup>59</sup>

La voie du catabolisme du cholestérol conduit aux acides biliaires primaires (cholate et chenodésoxycholate). L'étape d'engagement est catalysée par la 7 $\alpha$ -hydroxylase. Les sels biliaires sont excrétés dans l'intestin au sein de la bile. La majorité des sels biliaires (environ 95 %) est réabsorbée grâce au transporteur ASBT, le reste des sels biliaires est éliminé dans les fèces. La cholestyramine absorbe les sels biliaires ce qui empêche leur réabsorption et augmente leur élimination dans les fèces.

### C. Ezetimibe

Ce médicament est le chef de file d'une nouvelle classe pharmacologique, celle des 2-azetinedones. A la base, il s'agit d'un traitement pour les hypercholestérolémies qui agit sur une cible différente de celle des statines qui inhibent l'HMG-CoA réductase. La prise du traitement se fait par administration orale unique quotidienne. La biodisponibilité orale n'est pas modifiée par la prise d'aliments ou la consommation de graisses.

Les études pharmacocinétiques ont évalué les doses de 5, 10 et 15 mg. Une posologie souvent plus élevée que celle qui est habituellement utilisée dans l'hypercholestérolémie est nécessaire pour réduire suffisamment les taux plasmatiques de phytostérols<sup>3</sup>.

L'ezetimibe agit au niveau de la bordure en brosse des entérocytes de l'intestin grêle<sup>60</sup> (voir figure 21). Il va inhiber la protéine de transfert NPC1L1 responsable de l'absorption entérocytaire du cholestérol libre et des stérols végétaux. De fait, il inhibe de façon sélective l'absorption intestinale du cholestérol biliaire et alimentaire, ainsi que des phytostérols. L'ezetimibe interrompt le cycle entéro-hépatique du cholestérol. Cette diminution du retour du cholestérol vers le foie induit une stimulation de l'expression du récepteur aux LDL (ce qui contribue à augmenter la clairance du cholestérol et à diminuer la cholestérolémie). Le blocage du cycle entéro-hépatique du cholestérol entraîne également une augmentation de la synthèse hépatique du cholestérol via la stimulation de l'expression de l'HMG-CoA réductase. Ces données expliquent ainsi l'intérêt d'associer l'ezetimibe à un inhibiteur de l'HMG-CoA réductase (statine)<sup>61</sup>.



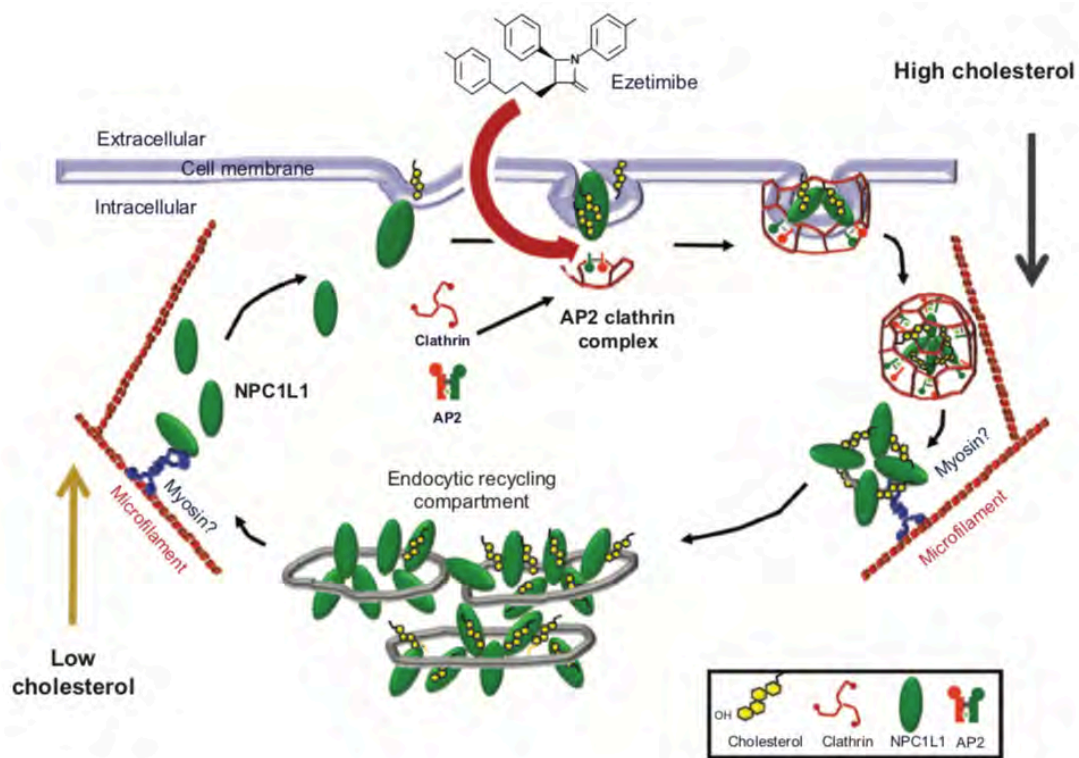


Figure 21 - Mécanisme d'action de l'ezetimibe <sup>62</sup>

Lorsque la concentration de cholestérol extracellulaire est élevée, le cholestérol est incorporé dans la membrane cellulaire et est détecté par NPC1L1 à la surface des cellules. NPC1L1 et le cholestérol sont ensuite internalisés ensemble par une endocytose médiée par un complexe clathrine/AP2 et transportés le long de microfilaments vers les vésicules du compartiment de recyclage de la voie d'endocytose (ERC). L'ERC est le lieu de stockage du cholestérol et de NPC1L1. Lorsque le taux de cholestérol intracellulaire est bas, les protéines NPC1L1 localisées dans l'ERC retournent à la membrane plasmique le long de microfilaments afin d'absorber le cholestérol. L'ezetimibe empêche l'interaction du complexe NPC1L1 / cholestérol avec le complexe AP2-clathrine.

L'ezetimibe n'affecte pas le transport des acides biliaires, du glucose, des oligopeptides, l'alanine, les acides gras et les vitamines liposolubles<sup>60</sup>. Aucune interaction pharmacocinétique cliniquement significative n'a été mise en évidence pour les médicaments dont l'usage est courant comme les statines, le fénofibrate, les antivitamines K, les sulfamides hypoglycémisants, et les antiacides.

L'ézetimibe n'est pas actif chez les enfants de moins de deux ans à cause de leur immaturité hépatique. Ce sont les métabolites de l'ézetimibe qui ont la plus grande activité puisque après glucuronidation, ils ont une plus forte affinité pour le transporteur NPC1L1 <sup>15</sup>.

L'ézetimibe apparaît comme un excellent traitement pour la sitostérolémie puisqu'il permet de réduire significativement le taux des phytostérols plasmatiques avec une très bonne tolérance <sup>63</sup>. Un essai randomisé démontre l'efficacité de l'ézetimibe 10 mg/jour par rapport au placebo. Le médicament réduit significativement les taux plasmatiques des deux stérols dérivés des plantes : pour le sitostérol moins 21 % versus 4 % et pour le campestérol moins 24 % versus 3 % <sup>64</sup>.

L'ézetimibe ne permet pas seulement la diminution des taux circulants de stérols végétaux, il permet aussi la réduction des xanthes, la normalisation de la morphologie des globules rouges, ainsi que la normalisation de la numération et de la formule plaquettaire. L'ézetimibe permet aussi la disparition des bruits carotidiens et une amélioration des murmures cardiaques <sup>46,65</sup>. Dans des situations sévères l'association ezetimibe-cholestyramine a été utilisée avec succès <sup>65</sup>.

#### D. Lipoprotéine aphérèse

La lipoprotéine aphérèse est à la base utilisée chez les patients qui ont une forme homozygote d'hypercholestérolémie familiale, pour diminuer le taux de lipoprotéines contenant de l'apolipoprotéine B. Au cours d'une séance de deux à trois heures la totalité du

sang est épurée. Ces techniques utilisent les propriétés physicochimiques des particules de LDL-C pour les isoler du sang ou du plasma. Elles utilisent les particularités électrostatiques, immunologiques, physiques (poids moléculaire, taille) ou de précipitation par de l'héparine du LDL-c. Cette épuration peut être faite soit sur le plasma après sa séparation du sang par une filtration primaire, soit sur sang total <sup>66</sup>. Les séances sont en général renouvelées toutes les semaines.

Ce traitement est décrit pour la première fois en 2017 par les médecins japonais de l'hôpital de Nagoya pour le traitement d'un de leurs patients atteint de sitostérolémie. Cette thérapeutique est mise en place en 1997 devant le constat de l'absence d'amélioration après modification du régime alimentaire. La lipoprotéine aphérèse apporte *a posteriori* d'excellents résultats, tels que la disparition des xanthomes et des arthralgies, mais aussi la réduction du taux de cholestérol dans le sérum, la réduction du taux de sitostérol dans le sérum ou encore la diminution de l'épaisseur de l'intima-media de l'artère commune de la carotide mesurée par ultrasonographie <sup>67</sup>.

C'est le seul cas de traitement par lipoprotéine aphérèse décrit dans la littérature à l'heure actuelle. Il a été mis en place à une époque où l'ezetimibe n'était pas disponible. Les excellents résultats obtenus avec le traitement par ezetimibe et l'absence de résistance décrite à l'ezetimibe font de ce médicament le traitement de référence.

## E. Traitement chirurgical

Le traitement chirurgical est rarement nécessaire puisque les traitements médicamenteux, tel que l'ézetimibe, sont bien tolérés et efficaces. Certains patients ont eu recours à un bypass intestinal, opération chirurgicale de raccourcissement de l'iléum. Cette chirurgie augmente les pertes d'acides biliaires et permet ainsi de réduire les taux plasmatiques et cellulaires de stérols et de stanols d'au moins 50 %<sup>37,68</sup>.

## F. Greffe hépatique

Un patient atteint de sitostérolémie a développé une cirrhose. La transplantation hépatique chez ce patient cirrhotique a permis de réduire les taux de phytostérols plasmatiques. En effet, la greffe hépatique a permis la restauration hépatique de l'activité des transporteurs ABCG5 et ABCG8, ce qui a suffi à induire l'élimination des stérols végétaux<sup>44</sup>.

## VI. A propos du cas de Mademoiselle CAL

### A. Anamnèse

Mademoiselle CAL est née en 1998 (elle est âgée de 19 ans), elle pèse 55 kilogrammes pour 157 centimètres (indice de masse corporelle de 22,3 kg/m<sup>2</sup> soit une corpulence normale selon l'OMS). Sa pression artérielle est à 148/86 mm Hg. Le rythme cardiaque est sinusal à 82 battements par minutes sans autre anomalie. L'examen clinique ne retrouve ni hépatomégalie ni splénomégalie.

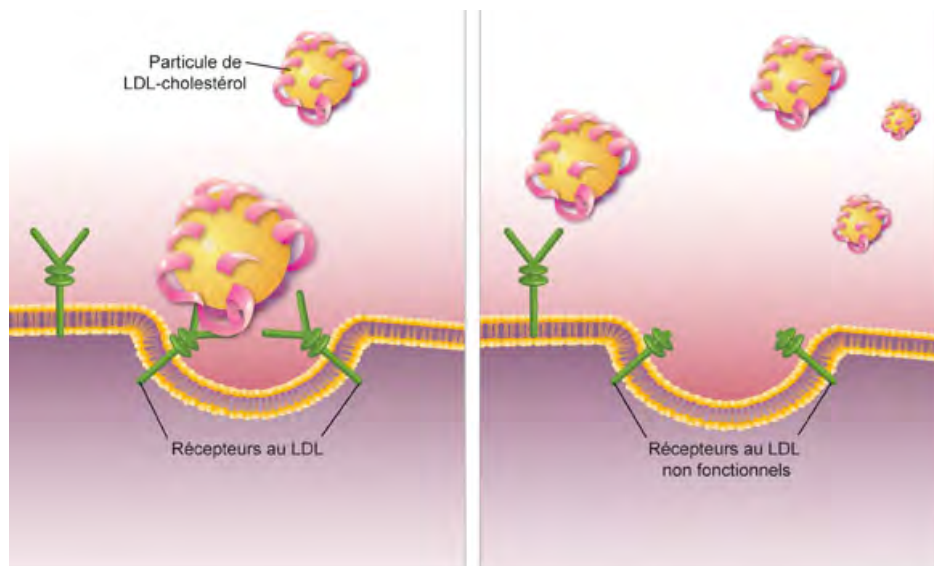
L'hypercholestérolémie de la patiente a été diagnostiquée face à des xanthomes cutanés diffus qui ont été constatés dès l'enfance et authentifiés en 2003 (à l'âge de 5 ans) par les médecins du service de pédiatrie de l'Hôpital Necker-enfants malades à Paris. Ces xanthomes étaient associés à une hypercholestérolémie majeure aux alentours de 6 g/L, soit 15,5 mmol/L, sans hypertriglycéridémie. L'histoire familiale ne révèle pas d'hypercholestérolémie ni du côté du père, ni du côté de la mère ; elle est fille unique.

L'équipe médicale parisienne pensait qu'elle était porteuse d'une hypercholestérolémie familiale homozygote face à des valeurs de CT et de LDL-C très élevées. Cette hypercholestérolémie a été confirmée à plusieurs reprises au cours de l'histoire clinique de cette jeune patiente avec des cholestérolémies qui ont oscillé entre 4,47 g/L (soit 11,6 mmol/L) et 4,63 g/L (soit 12 mmol/L) jusqu'à la mise en route du traitement par cholestyramine (date non communiquée). En effet, l'équipe pédiatrique parisienne a mis en route un traitement à base de deux sachets de questran soit 8 g de cholestyramine par jour, après avoir essayé un traitement par statines (date et durée non communiquée) qui s'est

révélé inefficace pour corriger la dyslipidémie de notre patiente. Ce changement de traitement a permis de faire diminuer significativement la cholestérolémie totale qui est passée de 13,3 mmol/L à 5,39 mmol/L. En quelques mois seulement après la mise en place du traitement par cholestyramine, les xanthomes ont disparu.

Cette jeune patiente a pu bénéficier dans son enfance (en 2005) d'un bilan biologique génétique complet réalisé à l'hôpital Saint-Antoine (AP-HP) :

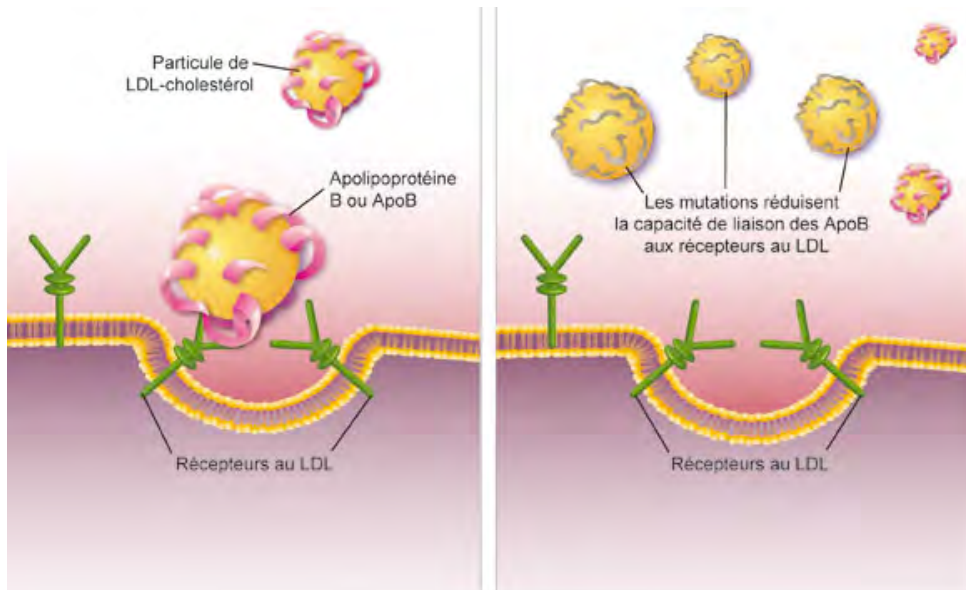
- La recherche de mutation ponctuelle au niveau du gène codant pour le récepteur des LDL a été négative. Il n'y a pas de résultats définitifs de la recherche de gros réarrangements génétiques (grosses délétions) au niveau du gène qui code pour le LDL-R. Chez les patients porteurs de mutations du gène du LDL-R, tout ou partie des LDL-R sont absents ou incapables de capter le LDL-C sanguin. Le LDL-C augmente alors anormalement dans le sang (voir figure 22).



**Figure 22** - Mutation des LDL-R <sup>69</sup>

*A gauche, les LDL-R fonctionnels capturent le LDL-C. A droite, les LDL-R non fonctionnels ne peuvent pas capter le LDL-C.*

- Le génotype de l'apoE est e3e3. Le gène de l'apoE existe sous 3 formes différentes appelées allèles e2, e3 et e4. L'allèle e3 est le plus répandu. L'apoE est synthétisée par le foie et le cerveau. Elle participe au transport des lipides dans le sang et à leur transfert dans les cellules. La forme e2 est moins efficace pour transférer les lipides du sang vers les cellules. Par conséquent, les personnes dont le génotype est e2/e2 éliminent moins vite les lipides transportés dans le sang.
- La recherche d'anomalies du gène de la lipoprotéine lipase a été négative. Le gène *LPL* code la lipoprotéine lipase, une sérine protéase fixée sur l'endothélium des capillaires, enzyme-clé du catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides (chylomicrons et VLDL). Le déficit héréditaire en LPL s'exprime dès l'enfance par des xanthomatoses éruptives fugaces et des douleurs abdominales.
- La recherche de la mutation de l'apoB Arg3500Gln a été négative. L'apolipoprotéine B est une composante essentielle des particules LDL qui est impliquée dans la reconnaissance des LDL par les LDL-R, notamment au niveau des hépatocytes. Chez les patients porteurs de mutations du gène *APOB*, les LDL-R ne reconnaissent pas le LDL-C (voir figure 23). Le LDL-C n'est alors pas éliminé de la circulation sanguine. Le taux sanguin de LDL-C augmente alors anormalement.

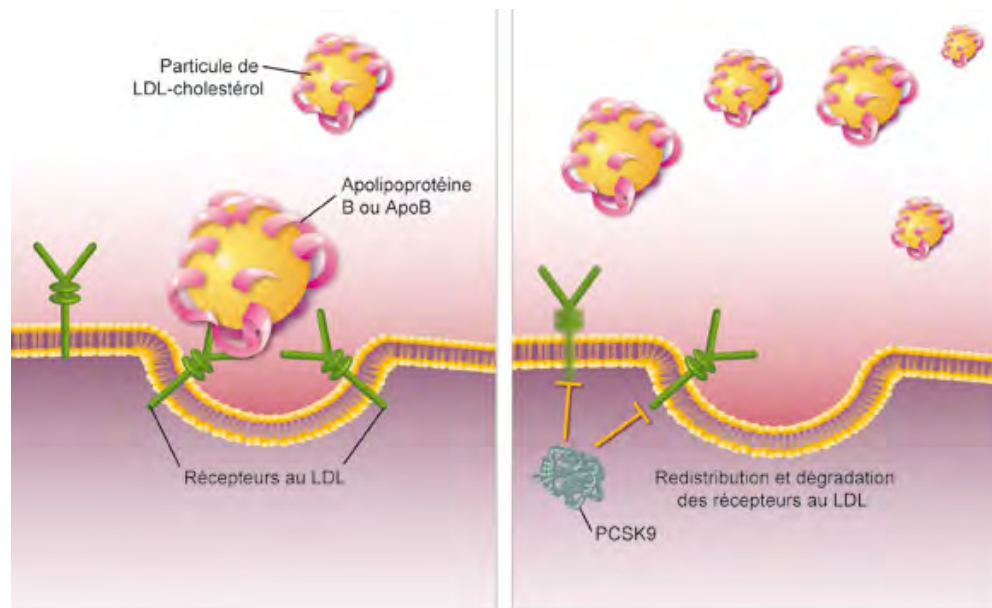


**Figure 23** – Mutation de l'apoB <sup>69</sup>

A gauche, les LDL-R fonctionnels reconnaissent le LDL-C par leur apoB. A droite, les mutations de l'apoB ne permettent plus aux LDL-R de capter le LDL-C.

- La mutation de la proprotéine convertase subtilisine/kexine de type 9 ou PCSK9 n'a pas été recherchée en raison de la méconnaissance de cette mutation à l'époque. PCSK9 intervient dans la régulation du nombre de LDL-R. Les mutations du gène *PCSK9* rencontrées chez les patients atteints d'hypercholestérolémie familiale entraînent une dégradation des LDL-R et une diminution de leur nombre à la surface des cellules. Les LDL-R en moins grand nombre à la surface des cellules éliminent donc moins le LDL-C du sang. Le taux sanguin de LDL-C augmente alors anormalement (voir figure 24).





**Figure 24** - Mutation de PCSK9 <sup>69</sup>

*A gauche, les LDL-R fonctionnels captent le LDL-C. A droite, la mutation de PCSK9 entraîne une destruction des LDL-R et une diminution de leur nombre à la surface des cellules ce qui diminue la capture du LDL-C.*

En raison des activités professionnelles familiales, Mademoiselle CAL a beaucoup voyagé mais, elle a continué son suivi médical, elle a été observante avec son traitement médicamenteux par cholestyramine. Les consultations dans le service de pédiatrie de l'AP-HP ont permis de constater la bonne observance thérapeutique de notre patiente ainsi que la bonne évolution biologique avec notamment un LDL-C à 1,41 g/L soit 3,64 mmol/L en octobre 2016.

Mademoiselle CAL se présente en novembre 2017 à la consultation du Professeur Ferrières au sein de l'Unité de prévention de l'athérosclérose du Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse pour le suivi d'une hypercholestérolémie sévère. Elle vient pour la

première fois en consultation sur Toulouse suite à un déménagement. Elle était auparavant suivie à l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP).

## B. Hypothèses diagnostiques

Mademoiselle CAL présente une hypercholestérolémie qui ressemble à une hypercholestérolémie familiale hétérozygote sans qu'on ait un arbre généalogique compatible avec ce diagnostic (taux de cholestérol normaux chez ses deux parents).

Les causes génétiques pourraient être : une mutation du LDL récepteur de type grande délétion, une anomalie sur le gène *PCSK9* qui conduit à une mutation de la protéine PCSK9, ou encore des mutations qui entraînent une hypercholestérolémie familiale autosomique récessive (mutations du gène *LDLRAP1*).

La présence de xanthomes chez une jeune patiente associée à une résistance inhabituelle de l'hypercholestérolémie aux statines oblige à rechercher la sitostérolémie.

## C. Diagnostic

### 1. Bilan cardiovasculaire

Mademoiselle CAL pratique une activité physique régulière mais modérée sous forme de marche et de randonnée pédestre. Un bilan cardiovasculaire est réalisé afin de vérifier qu'il n'y ait pas de dépôts vasculaires. Les pouls périphériques sont perçus sans souffle. L'auscultation pulmonaire est normale. La tension artérielle est de 120/76 mm Hg. L'auscultation

cardiaque retrouve un souffle systolique éjectionnel au niveau aortique irradiant aux carotides. La patiente signale qu'il s'agit d'un paramètre déjà connu mais sans bilan étiologique.

Le bilan cardiovasculaire réalisé en hospitalisation de jour en juin 2018 est composé d'un électrocardiogramme, d'une épreuve d'effort, d'une échographie doppler des artères, d'un scanner coronaire non injecté et d'une échographie trans-thoracique. L'électrocardiogramme déroule un rythme sinusal à 67 battements par minute sans anomalie. L'épreuve d'effort a pu être menée jusqu'à 93 % de la fréquence maximale théorique, pour une puissance de 90 watts. La pression artérielle est 188/80 mm Hg à l'acmé de l'effort. L'épreuve d'effort est donc normale autant sur le plan clinique que sur le plan électrique. L'examen échographique doppler des artères périphériques retrouve des index de pression systolique normaux à droite et à gauche. Il n'est pas mis en évidence de plaque d'athérosclérose carotidienne ou fémorale. Le scanner coronaire non injecté permet d'évaluer le score calcique à 0. L'échographie trans-thoracique révèle une sténose supra-valvulaire de la valve aortique qu'il faudra surveiller régulièrement en réalisant des échographies tous les ans.

## 2. Diagnostic biologique

### a) *Dosages de routine*

#### (1) Biochimie

Un bilan lipidique complet est réalisé le 29 novembre 2017 au CHU de Toulouse lors de la consultation de Mademoiselle CAL à l'Unité de prévention de l'athérosclérose. L'aspect

du sérum est clair. Le cholestérol total sérique est dosé à 10,17 mmol/L soit 3,93 g/L. Les concentrations sanguines du HDL-C, du VLDL-C et du LDL-C sont respectivement dosées à 1,54 mmol/L soit 0,6 g/L, 0,74 mmol/L soit 0,29 g/L et 7,91 mmol/L soit 3,06 g/L. Les triglycérides totaux sériques sont dosés à 1,63 mmol/L soit 1,43 g/L.

L'apolipoprotéine A-1 est le constituant protéique majeur des HDL, elle est dosée à 1,48 g/L pour une valeur attendue chez la femme adulte entre 1,1 et 2,1 g/L. L'apolipoprotéine B est le constituant protéique majeur des LDL, elle est dosée à 2 g/L pour une valeur attendue chez la femme adulte entre 0,5 et 1,35 g/L.

La lipoprotéine (a) ou Lp(a) est une glycoprotéine synthétisée dans le foie, formée d'une molécule analogue aux LDL, associée à une molécule d'apolipoprotéine (a). Comme les LDL, la Lp(a) est constituée d'une partie lipidique riche en esters de cholestérol et d'une partie protéique, l'apolipoprotéine B100 liée à une protéine ayant une homologie avec le plasminogène. La Lp(a) étant génétiquement déterminée, il n'est pas utile de répéter son dosage : deux résultats concordants suffisent à apprécier le niveau de risque du patient <sup>70</sup>. La Lp(a) est dosée à 11,3 nmol/L soit 0,05 g/L pour une valeur normale inférieure à 72 nmol/L soit 0,3 g/L.

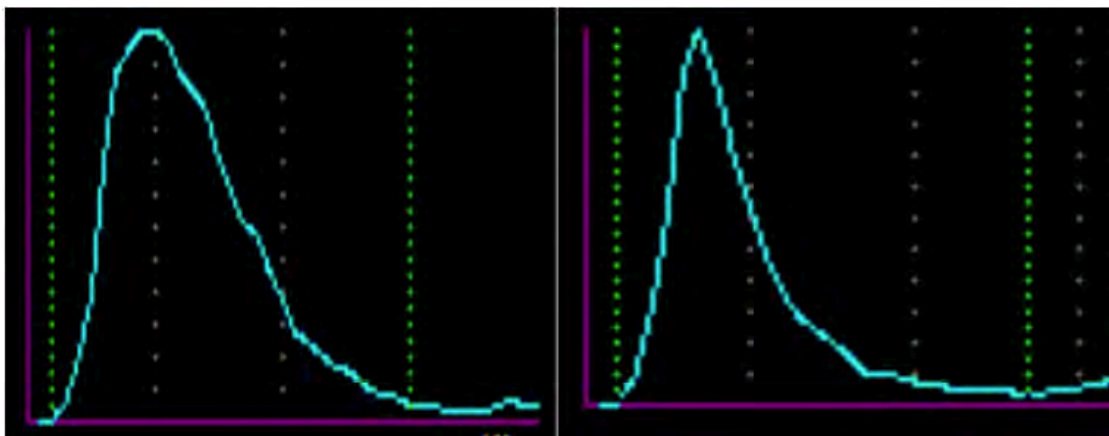
Le concept de lipoparticule s'appuie sur le fait que la partie « intelligente » d'une lipoprotéine correspond en réalité aux apolipoprotéines qu'elle contient et non à sa partie lipidique. Les lipoparticules simples ne contiennent qu'une seule apolipoprotéine, par exemple l'apolipoprotéine A-I, correspondant à la lipoparticule A-I (LpA-I) et les lipoparticules complexes qui contiennent plusieurs apolipoprotéines LpA-I:A-II par exemple. Cette nomenclature permet de définir une classification fonctionnelle des lipoprotéines. Il apparaît donc qu'une

faible concentration de LpA-I est un facteur de risque cardiovasculaire <sup>71</sup>. La LpA-1 est dosée à 0,61 g/L pour une valeur normale supérieure à 0,4 g/L.

En conclusion, le bilan lipidique de Mademoiselle CAL retrouve une hypercholestérolémie sévère avec pour composante majoritaire du LDL-C sans hypertriglycéridémie.

## (2) Hématologie

Le bilan d'hémostase est normal, la patiente ne décrit pas d'épisodes hémorragiques lors de l'interrogatoire. L'hémogramme réalisé sur automate Sysmex XN ne révèle pas d'anémie, pas de thrombopénie mais un VMP augmenté (Voir figure 25). La formule plaquettaire réalisée manuellement au microscope optique retrouve 90 % de plaquettes normales et 10 % de plaquettes de grande taille. Un VMP augmenté est associé à une macrocytose plaquettaire, ce qui est fréquemment retrouvé au cours de la sitostérolémie.



**Figure 25** - Histogrammes représentant la distribution du volume plaquettaire (en fL)

Les analyseurs Sysmex utilisent l'impédance combinée à la technique de focalisation hydrodynamique pour la numération des globules rouges et des plaquettes. L'impédance à volume fixe calibré permet de compter les cellules à travers un micro-orifice de comptage. Cet orifice de comptage est composé de 2 électrodes traversées par un courant continu afin d'obtenir des impulsions électriques proportionnelles au volume des cellules sanguines qui le traversent. Ces données électriques sont converties en histogrammes, représentant la distribution du volume. A gauche l'histogramme de Mademoiselle CAL avec un VMP augmenté (la courbe de distribution plaquettaire est décalée sur la droite). A droite l'histogramme d'un patient témoin avec un VMP normal.

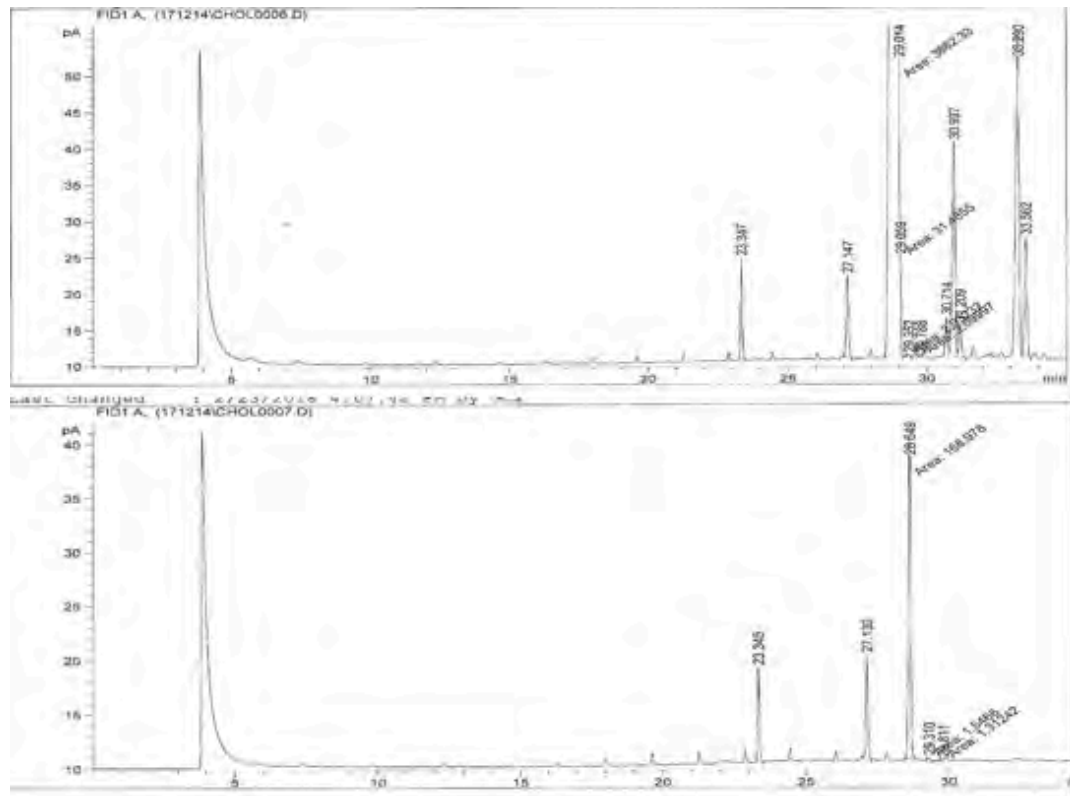
## b) *Dosages spécifiques*

### (1) Dosage des stérols végétaux

Le dosage des stérols végétaux et plus particulièrement du sitostérol a été réalisé par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme sur automate Agilent 6890N.

La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) est une technique de séparation des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de natures très diverses. Les éléments gazeux ou volatilisables par chauffage (sans décomposition) d'un échantillon sont injectés dans une colonne capillaire tapissée par une phase stationnaire. Ils vont ensuite être plus ou moins vite emportés par un gaz vecteur (phase mobile). Plus un élément a d'affinité avec la phase stationnaire, plus il prendra de temps pour sortir de la colonne de chromatographie. Les éléments peuvent être ensuite identifiés mais aussi quantifiés par détection à ionisation de flamme (FID) après étalonnage.

Dans le plasma de Mademoiselle CAL, des taux très élevés de stérols végétaux sont retrouvés. La concentration plasmatique de sitostérol est d'environ 560  $\mu\text{M}$  soit 23,21 mg/L ce qui correspond à plus de 56 fois la valeur normale. Sur le même échantillon, il est aussi retrouvé du campestérol (voir figure 26), ainsi que vraisemblablement du sitostanol et du campestanol.



**Figure 26** - Chromatogramme après CPG-FID

Le chromatogramme du haut correspond à notre patiente. Le chromatogramme du bas correspond à un témoin. On note chez Mademoiselle CAL à partir de 30min la présence anormale de stérols dont les caractéristiques chromatographiques correspondent à celles du sitostérol (temps de rétention de 33,290 min) et du campestérol (temps de rétention de 30,997min).

Ce même échantillon a été dosé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, ce qui a permis de vérifier et confirmer les résultats précédemment obtenus. La spectrométrie de masse (MS) sert à identifier les divers composants, chaque composant ayant un spectre de masse unique, ou quasi unique. On peut comparer le spectre de masse obtenu avec des bases de données de spectres de masse, ce qui permet l'identification.

L'analyse a aussi été réalisée chez les apparentés au premier degré de la patiente chez qui l'on ne retrouve pas la trace de stérols végétaux (voir figure 27).

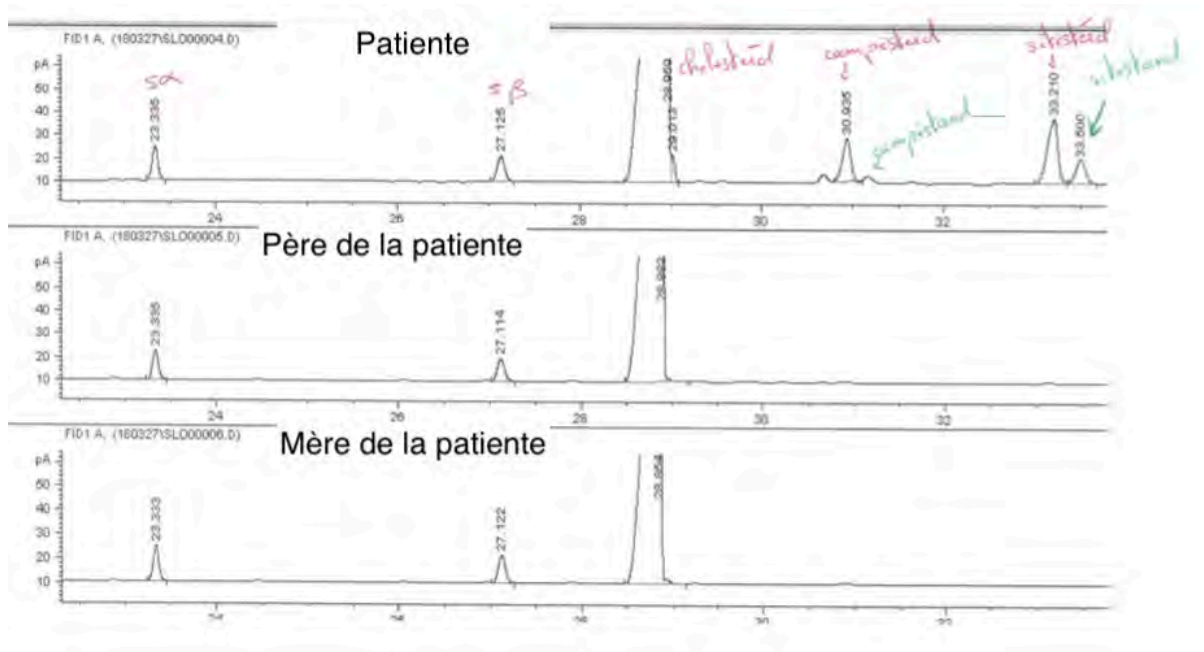


Figure 27 - Feuille de résultats de la CPG-FID de la patiente et de ses parents

La piste du haut correspond à l'analyse des stérols de notre patiente. On retrouve la présence de sitostérol, sitostanol, campestérol et campestanol. La piste du milieu et la piste du bas correspondent respectivement aux résultats du père et de la mère de la patiente, chez qui on ne retrouve pas la présence de stérols végétaux.

## (2) Analyse mutationnelle par biologie moléculaire

Les techniques d'analyse mutationnelle par biologie moléculaire ayant évolué depuis le dernier bilan génétique de la patiente en 2005, un prélèvement sanguin a été réalisé de nouveau en décembre 2017. Ceci, afin de contrôler et confirmer les résultats génétiques obtenus lors des analyses moléculaires précédentes pour expliquer l'hypercholestérolémie familiale. Il n'est pas retrouvé de mutation ni sur le gène de l'apoE, ni sur le gène de l'apoB, ni sur le gène du LDL-R. Il n'est pas retrouvé de mutation pathogène sur le gène de PCSK9, seulement une duplication de 3 bases C.63\_65dup de l'exon 1 du gène PCSK9. Soit l'addition d'une leucine au sein d'une répétition de neuf leucines du prodomaine de PCSK9 qui est associée dans les publications internationales à une diminution du LDL-C dans la population



caucasienne <sup>72</sup>. Une analyse complémentaire à la recherche de mutations par technique d'amplification multiplex de sondes dépendant d'une ligation est à venir pour Mademoiselle CAL.

L'analyse moléculaire faite à Toulouse a porté sur le gène *ABCG8*, puisque c'est le gène le plus fréquemment muté chez les personnes caucasiennes atteintes de sitostérolémie. Après extraction de l'ADN à partir de sang total prélevé chez Mademoiselle CAL, une amplification par réaction en chaîne par polymérase (PCR) et un séquençage Sanger de l'ADN extrait ont été réalisés pour étudier chaque exon du gène *ABCG8* et ses régions bordantes. On remarque la présence à l'état hétérozygote, dans l'exon 11, de la variation c.1608G>A, responsable de la mutation non-sens p.Trp536Stop (transcrit NM\_022437.2). Cette variation est déjà connue comme pathogène chez des patients atteints de sitostérolémie <sup>17</sup>, elle code pour une protéine tronquée. Après analyse de l'ADN génomique de la mère de Mademoiselle CAL, cette mutation est retrouvée à l'état hétérozygote.

A noter aussi, lors de l'étude de l'ADN génomique de la patiente, la présence :

- A l'état hétérozygote, dans l'exon 8, de la variation c.1199C>A (p.Thr400Lys), considérée comme bénigne mais pouvant affecter les taux circulants de cholestérol <sup>73</sup>. Cette variation est aussi retrouvée à l'état hétérozygote chez le père de la patiente.
- A l'état homozygote, dans l'exon 13, de la variation c.1895T>C (p.Val632Ala) pouvant elle aussi influencer les taux circulants de cholestérol <sup>74</sup>. Cette variation est aussi retrouvée à l'état homozygote chez le père et chez la mère de la patiente.

Au final, à ce stade des investigations, on ne retrouve à ce jour chez Mademoiselle CAL qu'une mutation sur l'ADN génomique du gène *ABCG8* déjà décrite comme responsable de la sitostérolémie.

### *c) Diagnostic retenu*

Les analyses biologiques réalisées au CHU de Toulouse ont permis de conclure au diagnostic de sitostérolémie chez Mademoiselle CAL. La présentation clinique de la patiente et notamment la présence de xanthomes, décrits dès le plus jeune âge, est compatible avec ce diagnostic. La présence de stérols végétaux à des taux supérieurs à 50 fois la normale dans le sang est un élément caractéristique du diagnostic biologique de la sitostérolémie. Le diagnostic de sitostérolémie est conforté par la résistance aux statines de l'hypercholestérolémie, clairement mentionnée dans les comptes rendus des précédentes consultations médicales. Cette résistance est très bien décrite dans la littérature et doit systématiquement conduire à un dosage des stérols végétaux, car elle est caractéristique au cours de la sitostérolémie <sup>45</sup>. Seul le diagnostic génétique n'est pas encore complet. L'analyse moléculaire de l'ADN génomique du gène *ABCG8* ne met en évidence pour l'instant qu'une mutation (déjà connue chez des patients atteints de sitostérolémie) à l'état hétérozygote. Pour autant, à l'heure actuelle seul l'ADN génomique du gène *ABCG8* a été étudié, l'analyse des transcrits (via l'ADN complémentaire) du gène *ABCG8* est en cours.

### **D. Traitement**

Chez Mademoiselle CAL le traitement par statines n'a pas montré de bénéfice, ce qui est très bien décrit dans la sitostérolémie <sup>45</sup>. Elle a ensuite pris de la cholestyramine qui semble avoir

eu un résultat plutôt correct sur le LDL cholestérol mais le traitement le plus efficace dans la sitostérolémie est l'ézetimibe à la posologie de 10 mg/j. Ce traitement a été prescrit à partir de décembre 2017. L'efficacité du traitement doit être confirmée par une diminution du taux plasmatique de stérols végétaux lors du prochain contrôle biologique. La valeur souhaitable du LDL cholestérol est la plus basse possible aux alentours de 1 g/L afin d'éviter plus tard des conséquences cardiovasculaires.

Le traitement médicamenteux s'associe à une diététique restrictive envers les stérols végétaux. Ce régime consiste simplement à éviter les aliments riches en stérols végétaux ou enrichis en stérols végétaux ; pour autant une éviction totale n'est pas envisageable car ces aliments sont aussi essentiels à la croissance et à la vie. La diététicienne de l'Unité de prévention de l'athérosclérose s'est entretenue avec notre jeune patiente afin de répondre à ses questions. Une activité physique modérée d'endurance est également fortement conseillée.

#### E. Suivi de la patiente

L'évolution clinique de Mademoiselle CAL est excellente, mais elle a néanmoins bénéficié d'un suivi rapproché par le laboratoire de biochimie du CHU de Toulouse. Suite à sa première consultation, elle est revenue 15 jours après pour effectuer un dosage des stérols végétaux. Puis elle est revenue à 3 mois et à 6 mois pour s'assurer de la bonne efficacité de l'ézetimibe sur ses taux de stérols végétaux sériques (voir tableau 28).

Aspect	Valeurs de références		J0 Cholestyramine 8g/j		J0+15 jours Ezetimibe 10 mg/j		J0+3mois Ezetimibe 10 mg/j		J0+6mois Ezetimibe 10 mg/j	
	Clair		Trouble		Clair		Clair		Clair	
TG	0,6-1,7 mM	0,5-1,5 g/L	1,63 mM	1,43 g/L	0,6 mM	0,53 g/L	0,65 mM	0,57 g/L	0,69 mM	0,6 g/L
CT	3,9-5,7 mM	1,5-2,2 g/L	10,19 mM	3,93 g/L	7,59 mM	2,93 g/L	5,65 mM	2,18 g/L	6,26 mM	2,42 g/L
C-HDL	1-2 mM	0,4-0,8 g/L	1,54 mM	0,6 g/L	1,67 mM	0,65 g/L	1,49 mM	0,58 g/L	1,34 mM	0,52 g/L
C-VLDL	0,25-0,78 mM	0,1-0,3 g/L	0,74 mM	0,29 g/L	0,27 mM	0,1 g/L	0,3 mM	0,12 g/L	0,31 mM	0,12 g/L
C-LDL		< 1 g/L	7,91 mM	3,06 g/L	5,65 mM	2,19 g/L	3,86 mM	1,49 g/L	4,61 mM	1,78 g/L
ApoA1		1,1-2,1 g/L		1,48 g/L		1,48 g/L		1,32 g/L		1,29 g/L
ApoB		0,5-1,35 g/L		2 g/L		1,47 g/L		1,12 g/L		1,36 g/L
Lp(a)	< 72 nM	< 0,30 g/L	11,3 nM	0,05 g/L	10 nM	0,04 g/L	12,9 nM	0,05 g/L	9,4 nM	0,04 g/L
LpA-I		> 0,4 g/L		0,61 g/L				0,47 g/L		0,51 g/L
Sitostérol	< 10 µM				560 µM		332 µM		250 µM	
Campestérol	< 3 µM						182 µM		136 µM	
Sitostanol							114 µM			
Campestanol							25 µM			

**Tableau 28** - Évolution des paramètres du bilan lipidique au cours du temps chez notre patiente

Le J0 correspond à la première consultation de notre patiente au CHU de Toulouse, s'ensuivent les bilans lipidiques à 15 jours, 3 mois et 6 mois réalisés au laboratoire de biochimie du CHU de Toulouse.

Après 6 mois de recul depuis le diagnostic, on peut conclure à une bonne efficacité de l'ézetimibe sur les taux de stérols végétaux qui ont diminué de plus de la moitié de leur valeur initiale. Il en est de même sur le bilan lipidique, les taux de CT et de LDL-C ont bien diminué mais ils restent trop élevés. L'objectif pour le LDL-C est d'avoir un taux le plus bas possible pour éviter les complications cardiovasculaires.

Il existe un rétrécissement aortique (dont le lien ici avec la sitostérolémie n'est pas prouvé) qu'il faudra surveiller tous les ans par échographie.

L'ensemble des résultats sont encourageants mais ne sont pas encore pleinement satisfaisants. Mademoiselle CAL doit continuer à faire attention à son régime alimentaire et à la bonne observance de son traitement.

## VII. Conclusion

Longtemps étudiée sur son versant biochimique, il y a aujourd'hui un regain d'intérêt pour la sitostérolémie de par son versant hématologique (macrothrombopénie, anémie hémolytique, stomatocytes, anomalie de l'hémostase...). Cette maladie génétique est décrite comme à transmission autosomique récessive. Cependant, la publication d'un cas récent ébranle les certitudes, celui d'une jeune Japonaise avec un statut double hétérozyte muté sur *ABCG5* et *ABCG8*<sup>75</sup>.

Historiquement, les premières publications en 1974 parlent d'une cinquantaine de familles atteintes dans le monde, mais de nos jours, la prévalence est estimée à 1/50 000<sup>3</sup>. Cette sous-estimation de la prévalence pose le problème de la supplémentation en phytostérols dans de nombreux régimes alimentaires chez de potentiels patients.<sup>9</sup> Les phytostérols ont un effet hypocholestérolémiant qui est bien établi mais le bénéfice cardiovasculaire n'est pas vrai pour tous les sujets<sup>76</sup>.

La sitostérolémie reste une maladie sous-diagnostiquée, elle n'est encore que trop peu connue du corps médical. Ce qui nous rappelle l'importance du dialogue clinico-biologique, et le rôle de conseil du biologiste médical dans son conseil sur les analyses à réaliser. Le retard diagnostique est fréquent même lors de consultations dans des centres de référence. Le tableau clinique typique associe dépôts de stérols extravasculaires et maladie athéromateuse sévère et précoce mais les présentations cliniques sont extrêmement variables et généralement associées à des taux de LDL-C normaux. Le cas décrit dans cette thèse est diagnostiqué « sitostérolémie » plus de 15 ans après sa première consultation dans un centre

de référence spécialisé en lipidologie et la mise en évidence d'une hypercholestérolémie. La patiente présente des dépôts de stérols extravasculaires dès le plus jeune âge, sans maladie athéromateuse sévère mais avec des taux de LDL-C élevé.

En 2018, l'équipe espagnole du Dr Martin publie dans la revue « Journal of Clinical Pathology » le cas d'une jeune patiente de deux ans atteinte de sitostérolémie <sup>77</sup>. Il est retrouvé chez elle la même mutation que notre patiente p.Trp536Stop mais à l'état homozygote. Tout comme notre cas, elle consulte initialement pour la présence de xanthomes (sur les deux talons et dans le sillon inter-fessier) dans le jeune âge. Les xanthomes seront spontanément résolutifs sous cholestyramine pour Mademoiselle CAL, ils seront chirurgicalement enlevés pour l'autre patiente. Dans les deux cas, la formule plaquettaire ne retrouve qu'un faible pourcentage de macroplaquettes. L'analyse biochimique des sérums des deux patientes révèle dans les deux cas une hypercholestérolémie associée à des taux de LDL-C élevés. Pour Mademoiselle CAL le LDL-C est dosé à 7,91 mM soit 3,06 g/L au diagnostic alors que pour l'autre patiente le LDL-C est dosé à 14,2 mM soit 5,46 g/L (les taux des stérols végétaux ne sont pas indiqués dans la publication de ce cas). On ne retrouve pas de lésions vasculaires chez les deux patientes. Il n'existe pourtant que peu de comparaisons et de similitudes décrites entre les cas, ce qui s'explique assez logiquement au vu du nombre important de mutations décrites par rapport au faible nombre de cas.

Il semble aussi important de préciser que l'on retrouve sur ABCG8 deux variations faux-sens ; ces deux polymorphismes sont bien connus (p.Thr400Lys dans l'exon 8 et p.Val632Ala dans l'exon 13). Ces deux variations sont décrites comme pouvant influencer les taux de

stérols circulants dans plusieurs publications mais les études sont à chaque fois réalisées sur la population générale (volontaires sains) <sup>73,74</sup>. Dans l'exon 8 la variation c.1199C>A (p.Thr400Lys) à l'état hétérozygote est présente chez 27,7 % de la population étudiée d'après Plat et al <sup>78</sup>, elle serait associée à des concentrations plus faibles en stérols plasmatiques <sup>73</sup>. Dans l'exon 13 la variation c.1895T>C (p.Val632Ala) à l'état homozygote est présente chez 63,2 % de la population étudiée d'après Viturro et al <sup>74</sup> et 83% de la population étudiée d'après Hubacek et al <sup>21</sup> et n'influence pas de manière significative les concentrations plasmatiques en lipides<sup>74</sup>. Aucune étude n'est à l'heure actuelle publiée sur l'impact de ces polymorphismes de ABCG8 sur les taux de stérols circulants chez les patients atteints de sitostérolémie. Il est donc difficile d'évaluer le réel impact de ces deux variations dans notre cas, que ce soit sur les taux plasmatiques de stérols végétaux, sur les taux plasmatiques de CT ou encore les taux plasmatiques de LDL-C de notre patiente.

Il semblerait que la sitostérolémie n'a pas fini de nous passionner autant par sa rareté que par ses diverses présentations cliniques et biologiques.

## Résumé

La sitostérolémie est une maladie autosomique récessive rare due à des mutations sur les gènes qui codent pour les transporteurs ABCG5 ou ABCG8. C'est une maladie métabolique au cours de laquelle on retrouve une hyperabsorption intestinale, un défaut d'élimination biliaire et une accumulation des phytostérols. Ce trouble s'accompagne d'une augmentation des taux plasmatiques de sitostérol, de campestérol et des autres stérols végétaux. Les principaux signes cliniques décrits au cours de la sitostérolémie sont les xanthomes, une athérosclérose précoce, des arthralgies, des atteintes hématologiques, les lithiases biliaires, la splénomégalie et des atteintes hépatiques. Dans ce travail, nous décrivons la physiopathologie et les moyens du diagnostic biologique de la sitostérolémie, ainsi que les options thérapeutiques. Nous présentons aussi le cas clinique d'une jeune patiente chez laquelle le diagnostic de sitostérolémie a été récemment porté ; nous discutons les difficultés rencontrées dans le diagnostic de cette affection.

## Abstract

Sitosterolemia is a rare or autosomal recessive disease due to mutations in the genes of ABCG5 or ABCG8 protein transporters. Sitosterolemia is a metabolic disorder characterized by increased intestinal absorption, decreased biliary elimination, and tissue accumulation of phytosterols. As a consequence, plasma levels of sitosterol, campesterol and other plant sterols are elevated. The main observed clinical signs of sitosterolemia include cutaneous xanthomas, early atherosclerosis, arthralgia, hematologic abnormalities, gallstone, splenomegaly and liver failure. Here, current knowledge on the pathophysiology and tools for biological diagnosis of sitosterolemia, as well as the therapeutic options are reviewed. The clinical case of a young female patient is also described; difficulties to establish the diagnosis of sitosterolemia are discussed.



# Bibliographie

1. Bhattacharyya, A. K. & Connor, W. E.  $\beta$ -Sitosterolemia and Xanthomatosis. *J Clin Invest* **53**, 1033–1043 (1974).
2. Kwiterovich, P. *et al.* Hyperapobetalipoproteinaemia in two families with xanthomas and phytosterolaemia. *The Lancet* **317**, 466–469 (1981).
3. Jouini, R. & Vergès, B. La sitostérolémie. *Médecine des Maladies Métaboliques* **10**, 650–653 (2016).
4. Prevalence\_des\_maladies\_rares\_par\_prevalence\_decroissante\_ou\_cas.pdf.[Internet]. [cité 30 nov 2018]. Disponible sur: [https://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/FR/Prevalence\\_des\\_maladies\\_rares\\_par\\_prevalence\\_decroissante\\_ou\\_cas.pdf](https://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/FR/Prevalence_des_maladies_rares_par_prevalence_decroissante_ou_cas.pdf)
5. Brinton, E. A. *et al.* The association between hypercholesterolemia and sitosterolemia, and report of a sitosterolemia kindred. *Journal of Clinical Lipidology* **12**, 152–161 (2018).
6. Bastida, J. M. *et al.* Sitosterolemia: diagnosis, metabolic and hematological abnormalities, cardiovascular disease and management. *Curr. Med. Chem.* (2018).
7. Kidambi, S. & Patel, S. B. Sitosterolaemia: pathophysiology, clinical presentation and laboratory diagnosis. *Journal of Clinical Pathology* **61**, 588–594 (2008).
8. Ling, W. & Jones, P. J. Dietary phytosterols: A review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sciences* **57**, 195–206 (1995).
9. Kane, J., Schaefer, E. & Malloy, M. Xenosterolemia: emerging molecular and clinical insights. *Current Opinion in Lipidology* **28**, 518–519 (2017).

10. Lecerf, J.-M. Phytostérols et risque cardiovasculaire. *Nutrition Clinique et Métabolisme* **21**, 17–27 (2007).
11. Altmann, S. W. *et al.* Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. *Science* **303**, 1201–1204 (2004).
12. Kwon, H. J., Palnitkar, M. & Deisenhofer, J. The Structure of the NPC1L1 N-Terminal Domain in a Closed Conformation. *PLoS One* **6**, (2011).
13. Plat, J. & Mensink, R. P. Plant Stanol and Sterol Esters in the Control of Blood Cholesterol Levels: Mechanism and Safety Aspects. *The American Journal of Cardiology* **96**, 15–22 (2005).
14. Lobaccaro, J.-M. A. *et al.* Régulation du métabolisme des lipides par les récepteurs nucléaires orphelins [Internet]. 16 févr 2008 [cité 28 nov 2018]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/75161>
15. Othman, R. A., Myrie, S. B. & Jones, P. J. H. Non-cholesterol sterols and cholesterol metabolism in sitosterolemia. *Atherosclerosis* **231**, 291–299 (2013).
16. Klett, E. L. BIOMEDICINE: Will the Real Cholesterol Transporter Please Stand Up. *Science* **303**, 1149–1150 (2004).
17. Lu, K. *et al.* Two Genes That Map to the STSL Locus Cause Sitosterolemia: Genomic Structure and Spectrum of Mutations Involving Sterolin-1 and Sterolin-2, Encoded by ABCG5 and ABCG8, Respectively. *The American Journal of Human Genetics* **69**, 278–290 (2001).
18. Mourez, M., Jéhanno, M., Hofnung, M. & Dassa, E. Rôle, fonctionnement et structure des transporteurs à ATP binding cassette (ABC). *médecine/sciences* **16**, 386 (2000).

19. Lee, J.-Y. *et al.* Crystal structure of the human sterol transporter ABCG5/ABCG8. *Nature* **533**, 561–564 (2016).
20. Ajagbe, B. O., Othman, R. A. & Myrie, S. B. Plant Sterols, Stanols, and Sitosterolemia. *Journal of AOAC International* **98**, 716–723 (2015).
21. Hubacek, J. A., Berge, K. E., Cohen, J. C. & Hobbs, H. H. Mutations in ATP-cassette binding proteins G5 (ABCG5) and G8 (ABCG8) causing sitosterolemia. *Human Mutation* **18**, 359–360 (2001).
22. Myrie, S. B., Mymin, D., Triggs-Raine, B. & Jones, P. J. Serum lipids, plant sterols, and cholesterol kinetic responses to plant sterol supplementation in phytosterolemia heterozygotes and control individuals<sup>123</sup>. *Am J Clin Nutr* **95**, 837–844 (2012).
23. Wang, J., Joy, T., Mymin, D., Frohlich, J. & Hegele, R. A. Phenotypic heterogeneity of sitosterolemia. *Journal of Lipid Research* **45**, 2361–2367 (2004).
24. Scoggan, K. A., Gruber, H. & Lariviere, K. A missense mutation in the Abcg5 gene causes phytosterolemia in SHR, stroke-prone SHR, and WKY rats. *J. Lipid Res.* **44**, 911–916 (2003).
25. Yu, H. *et al.* The rat STSL locus: characterization, chromosomal assignment, and genetic variations in sitosterolemic hypertensive rats. *BMC Cardiovasc Disord* **3**, 4 (2003).
26. Chase, T. H. *et al.* The mouse mutation ‘thrombocytopenia and cardiomyopathy’ (trac) disrupts Abcg5: a spontaneous single gene model for human hereditary phytosterolemia/sitosterolemia. *Blood* **115**, 1267–1276 (2010).
27. Patel, S. B., Graf, G. A. & Temel, R. E. ABCG5 and ABCG8: more than a defense against xenosterols. *J. Lipid Res.* **59**, 1103–1113 (2018).

28. McDaniel, A. L. *et al.* Phytosterol Feeding Causes Toxicity in ABCG5/G8 Knockout Mice. *The American Journal of Pathology* **182**, 1131–1138 (2013).
29. Yu, L. *et al.* Overexpression of ABCG5 and ABCG8 promotes biliary cholesterol secretion and reduces fractional absorption of dietary cholesterol. *Journal of Clinical Investigation* **110**, 671–680 (2002).
30. Adamski, H., Bligny, D. & Chevrant-Breton, J. Xanthomas. *EMC - Dermatologie* **4**, 1–12 (2009).
31. Wang, Z. *et al.* Specific macrothrombocytopenia/hemolytic anemia associated with sitosterolemia. *American Journal of Hematology* **89**, 320–324 (2014).
32. Menotti, A., Puddu, P. E., Lanti, M., Maiani, G. & Fidanza, F. Cardiovascular risk factors predict survival in middle-aged men during 50years. *European Journal of Internal Medicine* **24**, 67–74 (2013).
33. Oosterveer, D. M., Versmissen, J., Yazdanpanah, M., Hamza, T. H. & Sijbrands, E. J. G. Differences in characteristics and risk of cardiovascular disease in familial hypercholesterolemia patients with and without tendon xanthomas: A systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis* **207**, 311–317 (2009).
34. Sabeva, N. S. *et al.* Phytosterols differentially influence ABC transporter expression, cholesterol efflux and inflammatory cytokine secretion in macrophage foam cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **22**, 777–783 (2011).
35. Salen, G. *et al.* Lethal atherosclerosis associated with abnormal plasma and tissue sterol composition in sitosterolemia with xanthomatosis. *J. Lipid Res.* **26**, 1126–1133 (1985).

36. Cours athérosclérose. Available at: [http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath\\_4/site/html/4.html](http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_4/site/html/4.html). (Accessed: 28th December 2018)
37. Merkens, L. S., Myrie, S. B., Steiner, R. D. & Mymin, D. Sitosterolemia. in *GeneReviews*<sup>®</sup> (eds. Adam, M. P. et al.) (University of Washington, Seattle, 1993).
38. Tzavella, E. *et al.* Sitosterolemia: A multifaceted metabolic disorder with important clinical consequences. *Journal of Clinical Lipidology* **11**, 1095–1100 (2017).
39. Kanaji, T., Kanaji, S., Montgomery, R. R., Patel, S. B. & Newman, P. J. Platelet hyperreactivity explains the bleeding abnormality and macrothrombocytopenia in a murine model of sitosterolemia. *Blood* **122**, 2732–2742 (2013).
40. Wang, G. *et al.* Macrothrombocytopenia/Stomatocytosis Specially Associated With Phytosterolemia. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* **18**, 582–587 (2012).
41. Stewart, G. W., Lloyd, J. & Pegel, K. Mediterranean stomatocytosis/macrothrombocytopenia: update from Adelaide, Australia. *British Journal of Haematology* **132**, 660–661 (2006).
42. Wang, G. *et al.* A Phytosterolemia Patient Presenting Exclusively with Macrothrombocytopenia and Stomatocytic Hemolysis. *Acta Haematologica* **126**, 95–98 (2011).
43. Othman, R. A. *et al.* Ezetimibe Reduces Plant Sterol Accumulation and Favorably Increases Platelet Count in Sitosterolemia. *The Journal of Pediatrics* **166**, 125–131 (2015).
44. MIETTINEN, T. A., KLETT, E. L., GYLLING, H., ISONIEMI, H. & PATEL, S. B. Liver Transplantation in a Patient With Sitosterolemia and Cirrhosis. *Gastroenterology* **130**, 542–547 (2006).

45. Yoo, E.-G. Sitosterolemia: a review and update of pathophysiology, clinical spectrum, diagnosis, and management. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism* **21**, 7 (2016).
46. Escolà-Gil, J. C. *et al.* Sitosterolemia: Diagnosis, Investigation, and Management. *Current Atherosclerosis Reports* **16**, (2014).
47. *GeneReviews*<sup>®</sup>. (University of Washington, Seattle, 1993).
48. Patel, S. B. Recent advances in understanding the STSL locus and ABCG5/ABCG8 biology. *Curr. Opin. Lipidol.* **25**, 169–175 (2014).
49. Merkens, L. S., Myrie, S. B., Steiner, R. D. & Mymin, D. *Sitosterolemia*. (University of Washington, Seattle, 2018).
50. Laboratoire d'Hématologie Cellulaire du CHU d'Angers. Available at: <http://www.hematocell.fr/index.php/les-cellules-du-sang/anomalies-morphologiques-des-hematies/20-enseignements/145-morphologie-erythrocytaire-partie-2-anomalies-de-forme-des-gr>. (Accessed: 19th December 2018)
51. Bastida, J. M. *et al.* Two novel variants of the *ABCG5* gene cause xanthelasmas and macrothrombocytopenia: a brief review of hematologic abnormalities of sitosterolemia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* **15**, 1859–1866 (2017).
52. Jaceldo-Siegl, K. *et al.* Variations in dietary intake and plasma concentrations of plant sterols across plant-based diets among North American adults. *Mol Nutr Food Res* **61**, (2017).
53. Ras, R. T. *et al.* Consumption of plant sterol-enriched foods and effects on plasma plant sterol concentrations – A meta-analysis of randomized controlled studies. *Atherosclerosis* **230**, 336–346 (2013).

54. Kratz, M. *et al.* Similar serum plant sterol responses of human subjects heterozygous for a mutation causing sitosterolemia and controls to diets enriched in plant sterols or stanols. *European Journal of Clinical Nutrition* **61**, 896–905 (2007).
55. Tada, H. *et al.* Sitosterolemia, Hypercholesterolemia, and Coronary Artery Disease. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* **25**, 783–789 (2018).
56. Transmission.pdf. [Internet]. [cité 28 déc 2018]. Disponible sur: <https://www.orpha.net/orphaschool/formations/transmission/ExternData/InfoTransmission-Dreamweaver/Transmission.pdf>
57. Bruckert, E. FONCTIONNALITE DES LIPIDES DANS LE CONTEXTE D'UNE RELATION ALIMENTATION-SANTE Les phytostérols, place dans la prise en charge du patient hyperlipidémique. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **8**, 312–316 (2001).
58. Monographie de la cholestyramine. [Internet]. [cité 8 janv 2019]. Disponible sur: [https://pdf.hres.ca/dpd\\_pm/00044617.PDF](https://pdf.hres.ca/dpd_pm/00044617.PDF)
59. FMPMC-PS - Pharmacologie - Niveau DCEM1. Available at: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/POLY.Chp.9.7.html>. (Accessed: 8th January 2019)
60. Tellier, P. L'ézetimibe : de la pharmacologie aux essais thérapeutiques. *Annales d'Endocrinologie* **64**, 442–447 (2003).
61. Bonnet, F. Ézetimibe : mode d'action et intérêt de ce médicament dans le traitement de l'hypercholestérolémie. *T thérapeutique* **22**, 4 (2008).
62. Toth, P., Phan & Dayspring, T. Ezetimibe therapy: mechanism of action and clinical update. *Vascular Health and Risk Management* **415** (2012).

63. Salen G. *et al.* Ezetimibe Effectively Reduces Plasma Plant Sterols in Patients With Sitosterolemia. *Circulation* **109**, 966–971 (2004).
64. Salen G, von Bergmann K, Kwhiteovitch P, et al. Ezetimibe is an effective treatment for homozygous sitosterolemia (abstract no 929). American Heart Association 75th Scientific Sessions 2002 Nov 17-20, Orlando, Florida.
65. Salen, G., Starc, T., Sisk, C. M. & Patel, S. B. Intestinal Cholesterol Absorption Inhibitor Ezetimibe Added to Cholestyramine for Sitosterolemia and Xanthomatosis. *Gastroenterology* **130**, 1853–1857 (2006).
66. Saheb, S. La LDL-aphérèse : principes et indications. *Transfusion Clinique et Biologique* **22**, 198 (2015).
67. Sakuma, N., Tada, H., Mabuchi, H., Hibino, T. & Kasuga, H. Lipoprotein Apheresis for Sitosterolemia. *Annals of Internal Medicine* **167**, 896 (2017).
68. Liebeskind, A. & Wilson, D. P. *Sitosterolemia in the Pediatric Population*. (MDText.com, Inc., 2016).
69. Hypercholestérolémie Familiale (HF) : définition, comprendre l’hypercholestérolémie, prévenir et traiter. Available at: <http://www.anhet.fr/>. (Accessed: 18th February 2019)
70. Précis de Biopathologie. *Eurofins Biomnis*
71. Duriez et Fruchart - LES DYSLIPOPROTÉINÉMIES ET LE BIOLOGISTE.pdf. [Internet]. [cité 15 févr 2019]. Disponible sur: [http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/570/1997\\_12\\_1396.pdf?sequence=1](http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/570/1997_12_1396.pdf?sequence=1)



72. Slimani, A. *et al.* PCSK9 polymorphism in a Tunisian cohort: Identification of a new allele, L8, and association of allele L10 with reduced coronary heart disease risk. *Molecular and Cellular Probes* **29**, 1–6 (2015).
73. Berge, K. E. *et al.* Heritability of plasma noncholesterol sterols and relationship to DNA sequence polymorphism in ABCG5 and ABCG8. *J. Lipid Res.* **43**, 486–494 (2002).
74. Viturro, E. *et al.* Cholesterol and saturated fat intake determine the effect of polymorphisms at ABCG5/ABCG8 genes on lipid levels in children. *Genet. Med.* **8**, 594–599 (2006).
75. Tada, H., Nomura, A., Yamagishi, M. & Kawashiri, M. First case of sitosterolemia caused by double heterozygous mutations in ABCG5 and ABCG8 genes. *Journal of Clinical Lipidology* **12**, 1164-1168.e4 (2018).
76. Fumeron, F., Bard, J.-M., Vergès, B., Paillard, F. & Lecerf, J.-M. Phytostérols : un point sur les recommandations de l'ANSES. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* **50**, 209–214 (2015).
77. Martin, J. M. *et al.* Two-year-old girl with tuberous xanthomas. *Journal of Clinical Pathology* **71**, 860–862 (2018).
78. Plat, J., Bragt, M. C. E. & Mensink, R. P. Common sequence variations in ABCG8 are related to plant sterol metabolism in healthy volunteers. *Journal of Lipid Research* **46**, 68–75 (2005).

## Serment de Galien

Je jure, en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens

et de mes Condisciples :

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

- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

- de ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

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

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

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

## Sitostérolémie, à propos d'un cas

---

### Résumé

La sitostérolémie est une maladie autosomique récessive rare due à des mutations sur les gènes qui codent pour les transporteurs ABCG5 ou ABCG8. C'est une maladie métabolique au cours de laquelle on retrouve une hyperabsorption intestinale, un défaut d'élimination biliaire et une accumulation des phytostérols. Ce trouble s'accompagne d'une augmentation des taux plasmatiques de sitostérol, de campestérol et des autres stérols végétaux. Les principaux signes cliniques décrits au cours de la sitostérolémie sont les xanthomes, une athérosclérose précoce, des arthralgies, des atteintes hématologiques, les lithiases biliaires, la splénomégalie et des atteintes hépatiques. Dans ce travail, nous décrivons la physiopathologie et les moyens du diagnostic biologique de la sitostérolémie, ainsi que les options thérapeutiques. Nous présentons aussi le cas clinique d'une jeune patiente chez laquelle le diagnostic de sitostérolémie a été récemment porté ; nous discutons les difficultés rencontrées dans le diagnostic de cette affection.

---

### Abstract

Sitosterolemia is a rare or autosomal recessive disease due to mutations in the genes of ABCG5 or ABCG8 protein transporters. Sitosterolemia is a metabolic disorder characterized by increased intestinal absorption, decreased biliary elimination, and tissue accumulation of phytosterols. As a consequence, plasma levels of sitosterol, campesterol and other plant sterols are elevated. The main observed clinical signs of sitosterolemia include cutaneous xanthomas, early atherosclerosis, arthralgia, hematologic abnormalities, gallstone, splenomegaly and liver failure. Here, current knowledge on the pathophysiology and tools for biological diagnosis of sitosterolemia, as well as the therapeutic options are reviewed. The clinical case of a young female patient is also described; difficulties to establish the diagnosis of sitosterolemia are discussed.

---

**DISCIPLINE administrative** : BIOLOGIE MEDICALE

---

**MOTS-CLES** : sitostérolémie, phytostérolémie, sitostérol, stérols végétaux, ABCG5, ABCG8

---

Université Paul Sabatier Toulouse III - Faculté des Sciences Pharmaceutiques  
35 Chemin des Maraîchers - 31062 TOULOUSE Cedex 09 - France

**Directeur de thèse** : Monsieur le Professeur Thierry Levade