

**UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTE DE SANTE**

ANNÉE 2024

2024 TOU3 1558

THESE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MEDECINE SPECIALISEE BIOLOGIE MEDICALE

Présentée et soutenue publiquement

par

Ophélie VIENET

le 19.06.2024

**GM1-GANGLIOSIDOSE : EXPLORATIONS BIOLOGIQUES D'UN CAS ET REVUE
DE LA LITTERATURE**

Directeur de thèse : Pr Thierry LEVADE

JURY

Monsieur le Professeur Yves CHAIX	Président
Madame le Docteur Aurélie BOURCHANY	Assesseur
Madame le Docteur Frédérique SABOURDY	Assesseur
Madame le Docteur Valérie PORQUET BORDES	Assesseur
Monsieur le Professeur Thierry LEVADE	Suppléant

Serment d'Hippocrate

« Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire. Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément. Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés. J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque. »

Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

Tableau du personnel Hospitalo-Universitaire de médecine

2023-2024

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI Jacques
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GLOCK Yves
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GOUZI Jean-Louis
Doyen Honoraire	M. SERRANO Elie	Professeur Honoraire	M. GRAND Alain
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ADOUE Daniel	Professeur Honoraire	M. LANG Thierry
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blanche
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LAROCHE Michel
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	M. LAUQUE Dominique
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. ATTAL Michel	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	M. MALECAZE François
Professeur Honoraire	M. BLANCHER Antoine	Professeur Honoraire	M. MANELFE Claude
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MARCHOU Bruno
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire	M. BONNEVIALLE Paul	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BOSSAVY Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Franck	Professeur Honoraire	M. MONTASTRUC Jean-Louis
Professeur Honoraire Associé	M. BROS Bernard	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. BUJAN Louis	Professeur Honoraire associé	M. NICODEME Robert
Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CALVAS Patrick	Professeur Honoraire	M. PRINAUD Jean
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. PERRET Bertrand
Professeur Honoraire	M. CARON Philippe	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. CHIRON Philippe	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	M. RAILHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA Michel	Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. RISCHMANN Pascal
Professeur Honoraire	M. DAHAN Marcel	Professeur Honoraire	M. RIVIERE Daniel
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHVEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	Mme DELISLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. ROUGE Daniel
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DJUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SCHMITT Laurent
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SERRE Guy
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. SIZUN Jacques
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire	M. FOURTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques
Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle		

Professeurs Emérites

Professeur BUJAN Louis	Professeur MESTHE Pierre
Professeur CARON Philippe	Professeur MONTASTRUC Jean-Louis
Professeur CHAP Hugues	Professeur PARINI Angelo
Professeur FRAYSSE Bernard	Professeur PERRET Bertrand
Professeur LANG Thierry	Professeur ROQUES LATRILLE Christian
Professeur LAROCHE Michel	Professeur SERRE Guy
Professeur LAUQUE Dominique	Professeur SIZUN Jacques
Professeur MAGNAVAL Jean-François	Professeur VIRENQUE Christian
Professeur MARCHOU Bruno	Professeur VINEL Jean-Pierre

FACULTE DE SANTE
Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

P.U. - P.H.
Classe Exceptionnelle et 1ère classe

M. ACAR Philippe	Pédiatrie	Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie
M. ACCADBLED Franck (C.E)	Chirurgie Infantile	M. LARRUE Vincent	Neurologie
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne	M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'Urgence
M. AMAR Jacques (C.E)	Thérapeutique	Mme LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie, Santé publique	M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale
M. ARBUS Christophe	Psychiatrie	M. LE CAIGNEC Cédric	Génétique
M. ARNAL Jean-François (C.E)	Physiologie	M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie
M. AUSSEIL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire	M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie
M. AVET-LOISEAU Hervé (C.E)	Hématologie, transfusion	M. MALAVAUD Bernard (C.E)	Urologie
M. BERRY Antoine (C.E.)	Parasitologie	M. MANSAT Pierre (C.E)	Chirurgie Orthopédique
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique cardiovascul
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. MARQUE Philippe (C.E)	Médecine Physique et Réadaptation
M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique	M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul	M. MAURY Jean-Philippe (C.E)	Cardiologie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	Mme MAZEREUW Juliette	Dermatologie
Mme BURA-RIVIERE Alessandra (C.E)	Médecine Vasculaire	M. MAZIERES Julien (C.E)	Pneumologie
M. BUREAU Christophe (C.E.)	Hépatogastro-entérologie	M. MINVILLE Vincent (C.E.)	Anesthésiologie Réanimation
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépatogastro-entérologie	M. MOLINIER Laurent (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	Mme MOYAL Elisabeth (C.E)	Cancérologie
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie	M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie
M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie cellulaire
Mme CHARPENTIER Sandrine (C.E)	Médecine d'urgence	M. PARIENTE Jérémie	Neurologie
M. CHAUFOUR Xavier (C.E.)	Chirurgie Vasculaire	M. PAUL Carle (C.E)	Dermatologie
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie	M. PAYOUX Pierre (C.E)	Biophysique
M. CHAYNES Patrick	Anatomie	M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	M. PERON Jean-Marie (C.E)	Hépatogastro-entérologie
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie	Mme PERROT Aurore	Physiologie
M. COURBON Frédéric (C.E)	Biophysique	M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie
Mme COURTADE SAIDI Monique (C.E)	Histologie Embryologie	Mme RAUZY Odile (C.E.)	Médecine Interne
M. DAMBRIN Camille	Chir. Thoracique et Cardiovasculaire	M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.	M. RECHER Christian(C.E)	Hématologie
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition
M. DELABESSE Eric	Hématologie	M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. DELORD Jean-Pierre (C.E)	Cancérologie	M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. ROUX Franck-Emmanuel (C.E.)	Neurochirurgie
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. SAILLER Laurent (C.E)	Médecine Interne
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique	M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie	M. SANS Nicolas	Radiologie
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique	Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
M. FOURCADE Olivier (C.E)	Anesthésiologie	Mme SELVES Janick (C.E)	Anatomie et cytologie pathologiques
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie	M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. GAME Xavier (C.E)	Urologie	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie, Santé publique	M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
Mme GASCOIN Géraldine	Pédiatrie	Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation	Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel (C.E)	Anatomie Pathologique	M. SOULAT Jean-Marc (C.E)	Médecine du Travail
M. GOURDY Pierre (C.E)	Endocrinologie	M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie
M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis (C.E)	Chirurgie plastique	M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie	Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie	M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale
M. HUYGHE Eric	Urologie	Mme TREMOLLIÈRES Florence (C.E.)	Biologie du développement
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	Mme URO-COSTE Emmanuelle (C.E)	Anatomie Pathologique
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie	M. VAYSSIERE Christophe (C.E)	Gynécologie Obstétrique
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique	M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie

P.U. Médecine générale

Mme DUPOUY Julie
M. OUSTRIC Stéphane (C.E)
Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve

FACULTE DE SANTE
Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

P.U. - P.H.
2ème classe

M. ABBO Olivier	Chirurgie infantile
Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie, Santé publique
M. BOUNES Vincent	Médecine d'urgence
Mme BOURNET Barbara	Gastro-entérologie
Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. CAVAGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M. COGNARD Christophe	Radiologie
Mme CORRE Jill	Hématologie
Mme DALENC Florencé	Cancérologie
M. DE BONNECAZE Guillaume	Anatomie
M. DECRAMER Stéphane	Pédiatrie
Mme DUPRET-BORIES Agnès	Oto-rhino-laryngologie
M. EDOUARD Thomas	Pédiatrie
M. FAGUER Stanislas	Néphrologie
Mme FARUCH BILFELD Marie	Radiologie et imagerie médicale
M. FRANCHITTO Nicolas	Addictologie
M. GARRIDO-STÓWHAS Ignacio	Chirurgie Plastique
M. GUERBY Paul	Gynécologie-Obstétrique
M. GUIBERT Nicolas	Pneumologie
M. GUILLEMINAULT Laurent	Pneumologie
M. HOUZE-CERFON	Médecine d'urgence
M. HERIN Fabrice	Médecine et santé au travail
M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. LEANDRI Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie
M. LOPEZ Raphael	Anatomie
Mme MARTINEZ Alejandra	Gynécologie
M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. MEYER Nicolas	Dermatologie
Mme MOKRANE Fatima	Radiologie et imagerie médicale
Mme MONTASTIER Emilie	Nutrition
Mme PASQUET Marlène	Pédiatrie
M. PIAU Antoine	Médecine interne
M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. PUGNET Grégory	Médecine interne
M. REINA Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. RENAUDINEAU Yves	Immunologie
M. REVET Alexis	Pédo-psychiatrie
M. ROUMIGUIE Mathieu	Urologie
Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
M. SAVALL Frédéric	Médecine légale
M. SILVA SIFONTES Stein	Réanimation
M. TACK Ivan	Physiologie
Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie
Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie
M. YRONDI Antoine	Psychiatrie
M. YSEBAERT Loic	Hématologie

Professeurs Associés

Professeurs Associés de Médecine Générale

M. ABITTEBOUL Yves
M. BIREBENT Jordan
M. BOYER Pierre
Mme FREYENS Anne
Mme IRI-DELAHAYE Motoko
Mme LATROUS Leila
M. POUTRAIN Jean-Christophe
M. STILLMUNKES André

Professeurs Associés Honoraires

Mme MALAVALD Sandra
Mme PAVY LE TRAON Anne
M. SIBAUD Vincent
Mme WOISARD Virginie

FACULTE DE SANTE
Département Médecine, Maïeutique et Paramédical

MCU - PH

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène	M. GASQ David	Physiologie
M. APOIL Pol Andre	Immunologie	M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie	Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie	Mme GENOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie	Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme BELLIERES-FABRE Julie	Néphrologie	Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Médecine légale et droit de la santé
Mme BENEVENT Justine	Pharmacologie fondamentale	Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion	M. HAMDI Safouane	Biochimie
M. BIETH Eric	Génétique	Mme HITZEL Anne	Biophysique
Mme BOST Chloé	Immunologie	M. HOSTALRICH Aurélien	Chirurgie vasculaire
Mme BOUNES Fanny	Anesthésie-Réanimation	M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme BREHIN Camille	Pneumologie	Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. BUSCAIL Etienne	Chirurgie viscérale et digestive	M. KARSENTY Clément	Cardiologie
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire	M. LAPEBIE François-Xavier	Médecine vasculaire
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie	Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie	M. LEPAGE Benoit	Biostatistiques et Informatique médicale
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition	M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme CASSAGNE Myriam	Ophthalmologie	Mme MASSIP Clémence	Bactériologie-virologie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie	Mme MAULAT Charlotte	Chirurgie digestive
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique	Mme MAUPAS SCHWALM Française	Biochimie
M. CHASSAING Nicolas	Génétique	M. MONTASTRUC François	Pharmacologie
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire	Mme MOREAU Jessika	Biologie du dév. Et de la reproduction
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques	Mme MOREAU Marion	Physiologie
M. COMONT Thibault	Médecine interne	M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
M. CONGY Nicolas	Immunologie	Mme NOGUEIRA Maria Léonor	Biologie Cellulaire
Mme COURBON Christine	Pharmacologie	Mme PERICART Sarah	Anatomie et cytologie pathologiques
M. CUROT Jonathan	Neurologie	M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie	Mme PLAISANCIE Julie	Génétique
Mme DE GLISEZINSKY Isabelle	Physiologie	Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale	Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et médecine nucléaire
M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie	Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
M. DELMAS Clément	Cardiologie	Mme RIBES-MAUREL Agnès	Hématologie
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale	Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie	Mme SALLES Juliette	Psychiatrie adultes/Addictologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail	Mme SIEGFRIED Aurore	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme FABBRI Margherita	Neurologie	Mme TRAMUNT Blandine	Endocrinologie, diabète
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie	M. TREINER Emmanuel	Immunologie
Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie	Mme VALLET Marion	Physiologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition	M. VERGEZ François	Hématologie
M. GANTET Pierre	Biophysique	Mme VIJA Lavinia	Biophysique et médecine nucléaire

M.C.U. Médecine générale

M. BRILLAC Thierry
M. CHICOLAA Bruno
M. ESCOURROU Emile
Mme GIMENEZ Laetitia

Maîtres de Conférence Associés

M.C.A. Médecine Générale

Mme BOURGEOIS Odile
Mme BOUSSIER Nathalie
Mme DURRIEU Florence
Mme FRANZIN Emilie
M. GACHIES Hervé
M. PEREZ Denis
M. PIPONNIER David
Mme PUECH Marielle
M. SAVIGNAC Florian

REMERCIEMENTS

A mon jury,

A mon président du jury,

Monsieur le Professeur **Yves CHAIX**,

Pour l'honneur que vous me faites de présider ce jury, et d'y apporter votre expertise, veuillez trouver ici le témoignage de ma sincère reconnaissance.

A mon directeur de thèse,

Monsieur le Professeur **Thierry LEVADE**,

Je vous suis reconnaissante d'avoir accepté de diriger ma thèse. Et surtout de m'avoir proposé ce sujet si intéressant, je vous remercie pour votre bienveillance et vos connaissances, merci d'avoir toujours pris le temps pour me guider et me conseiller tout au long de ce travail malgré l'agenda toujours très chargé qui occupe vos journées. Soyez assuré de trouver dans ce travail le témoignage de ma gratitude et de mon plus profond respect.

Aux membres de mon jury,

Madame le Docteur **Frédérique SABOURDY**

Je te remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury. Merci pour ton aide, ta patience, tes nombreuses tentatives pour toujours me trouver les meilleurs schémas à intégrer dans mon manuscrit, et de toute l'attention que tu as porté à mon travail.

Mesdames les Docteurs **Aurélié BOURCHANY et Valérie PORQUET BORDES**

Je vous remercie toutes les deux d'avoir accepté de siéger à ce jury et de l'intérêt que vous portez à mon travail. Merci pour votre aide concernant le côté clinique de ce manuscrit, dont je me suis un peu éloignée depuis quelques années. Soyez assurée de ma gratitude.

Je remercie également tous les techniciens qui ont participé de manière directe ou indirecte à l'élaboration de ce travail (plus particulièrement Valérie, Nina et Laurie qui ont toujours pris le temps de m'expliquer et m'aider à interpréter certains résultats).

A ma famille,

Mes parents,

Merci d'avoir toujours été présents, de m'avoir toujours poussé dans mes études alors que j'étais loin d'être une élève assidue (merci papa de m'avoir fait mes DM de math jusqu'en 1ere, je serais encore au lycée à cette heure-ci sinon). Merci d'avoir toujours fais en sorte que je n'ai à me soucier de rien durant toutes ces années, merci de déboucher encore mes siphons et de laver mes vitres quand vous me rendez visite 😊. Et merci de supporter ce caractère dont je ne dirai pas de qui je tiens.

Mes grands-parents,

Pépère Jojo et Mémère Claire, ces grands-parents qui ont toujours été en meilleure forme que moi. Merci pour votre présence et votre soutien depuis toujours, les milliers d'aller-retour pour m'emmener à la gym depuis mon plus jeune âge, à tous ces mercredis à jouer à la dinette sous le pommier, et ces moments de panique de mémère dès que je grimpais sur un mur où me servait d'un couteau. Merci pour tous ces bons petits plats, de la soupe au lait jusqu'au mythique poulet cancoillotte, c'est un peu à cause de vous que je n'ai toujours pas d'abdos, mais je fais avec !

Ma Cctte,

Ma meilleure amie, une évidence de poser ton nom sur la page de la famille, comme une sœur depuis toujours, tu as bien plus été là que n'importe qui toutes ces années. A toutes nos bêtises qu'on ne citera évidemment pas, ces soirées / weekend / vacances ensemble tous plus inoubliables les uns que les autres. Ces fous rires à se faire pipi dessus (oui littéralement). Un choix que je ne regretterai jamais d'être venue à Toulouse pour me rapprocher de la nouvelle vie que tu avais choisie. Ravie de pouvoir être la (future) marraine de ma petite Clotilde malgré mon amour incommensurable pour les enfants. Merci pour tout.

A mes amis de toujours,

Ma Fanny,

Autrement appelé Bipeuse, tu es la personne la plus forte que je connaisse, depuis le collège et jusqu'au bout de la vie. Tu as toujours été un soutien sans failles, mon double (en plus canon) sur tellement de choses, on se sait. A toutes nos looooongues discussions sur des bancs à critiquer les gens au collège/lycée, ces fous rires à n'en plus finir, et ton rire si communicatif, ma plus qualitative +1 de mariage ever, celle qui m'a également donné la passion du crossfit (merci ou pas merci je ne sais pas trop). J'arriverai un jour à te faire me rejoindre dans le Sud-Ouest ! N'oublie jamais que je suis fière de toi et de tout ce que tu fais. Garde ce sourire à jamais.

Mes deux gros : Rourou et Romaine,

Aux 2 meilleurs des meilleurs copains, depuis la coupe de cheveux Justin Bieber jusqu'à aujourd'hui et plus encore. A tous nos rdv au gymnase avant la gym ou le hand, ces soirées chez Chahin (big up à tous ces kebabs que vous avez fini à ma place), les nombreuses soirées, les campings, les beer pong et caps en tout genre à Villers, les nouvel an à écrire sur la tête de Camille... Vous aussi vous êtes la famille que j'ai choisie.

Mari-Pissenlit,

Ma plus belle rencontre de ces dernières années. Tout est parti d'un « tu vas à la soirée P2 ce soir ? » sur twitter parce que je n'avais pas d'amis, l'histoire dira même que j'ai mis des smileys pour paraître sympa. Une amitié qui traverse les études et la distance, mes années médecine n'auraient pas été pareilles sans ta présence. A toutes nos soirées endiablées et alcoolisées, je n'oublierai jamais cette merveilleuse nuit où tu m'as vomi dans les cheveux, et celle où tu t'es éclaté le menton à la gare d'eau pendant que je passais la soirée sous un porche de coiffeur sous la pluie à attendre que tu rentres des urgences. Ces soirées Mario kart, nos fous-rires à la BU, merci de m'avoir fait découvrir Nice et les cocktails aux 3 diables. Merci d'avoir toujours été présente, et de toute façon je ferai toujours semblant d'être sympa avec toi car c'est utile d'avoir une radiologue dans son entourage.

Mon Ramolo,

Igor mon bucheron Russe, ou Boris je ne sais même plus à force, heureusement que tu as été le relais de Didi pour le copiage des DM de maths et toute autre sortes de dissertations au lycée. C'est aussi grâce à toi que je peux me vanter d'avoir su faire des probabilités lors de ma première année de médecine et d'être là où j'en suis actuellement. Moi en retour, je t'ai appris à roter, c'est bien aussi non ? Un jour tu m'as dit que j'avais l'air méchante (c'est vrai) et que tu n'avais pas osé m'aborder, visiblement le syndrome de Stockholm n'est pas une légende puisque 10 ans plus tard tu es toujours là. Tout plein de soutien pour l'artiste dans l'âme que tu es et pour tes projets futurs !

A mes amis et collègues Toulousains,

Pappaupip,

Mon évidence ici, 2 personnalités opposées qui forment une amitié de qualité. Ma collègue de l'enfer au travail, quand Tic et Tac sont là les 2 en même temps tout roule à la perfection. Un humour approximatif mais je sais que tu rigoleras toujours à mes blagues, de gênance, mais je prends. En revanche arrête de croire que parce qu'on fait du CrossFit on va déménager tes canapés moches tout le temps stp. Promis je vais venir te voir bientôt te trémousser sur scène en jouant le feu, ou les feuilles, ou le quatre-quarts que sais-je. Et vive les pingouins !

Candice et Maëlys,

Mes 2 morues préférées, 2 personnes qui connaissent la vraie valeur de la cancoillotte ici ! Mon stage d'hémato sans vous n'aurait pas eu la même saveur. Au-delà de ça, vous savez que je n'aime pas grand monde, mais vous faites clairement partie de ce cercle fermé de ma tolérance à autrui. 2 personnes exceptionnelles, dont une qui à même la capacité de râler plus que moi parfois ! A tous nos futurs repas pas du tout healthy à base de fromage, encore de fromage, et beaucoup de fromage.

Au Dr Ousset,

Cette petite personne pleine de joie de vivre, toujours partante pour aller boire une bière ou faire un apéro, déçue de ne pas avoir pu profiter d'être en stage avec toi (pour le moment), on se souviendra de ces parties de pétanque de professionnels ! Un bonheur de

pouvoir partager cet internat dans le même établissement que la future meilleure hémato de Toulouse, tu me feras un autographe stp. Reste ce petit rayon de soleil que tu es !

A tous mes autres co-internes qui m'auront fait rire de près ou de loin et m'auront aidé à passer de meilleurs stages pendant ces années d'internat : **Dr Loubet** et nos match de badminton et de baby, big up à cette garde à devoir vider les bactec aussi, première fois ou je t'ai un peu moins aimé que d'habitude. **Dr Cazeneuve** même si on sait que j'écris ce message pour Nono au fond, c'est toujours un plaisir d'avoir pu discuter et passer des soirées avec toi, et non le logo sur ton t-shirt ne te rendras pas meilleur à la pétanque. Aux pauses à tout endroit pouvant contenir de la nourriture avec toi **Lamia**, une personne en or et une co-interne avec beaucoup de patience et de connaissance, ma sauveuse plusieurs fois sur les myélo en garde, sinon, on va chez Jean ? **Benji**, un grand soutien, beaucoup de choses à apprendre auprès de toi et toujours beaucoup de rigolades en ta compagnie. Évidemment **Emma et Angelo** la super team qui va probablement sauver mon semestre de biochimie, promis je trouverai chaque fois une excuse pour que vous partiez à 14h ! Et mercé **Luc** pour avoir réussi à me numéroter mes pages à partir de la 7^e car je ne sais pas me servir de word.

Et bien sûr on n'oublie pas mes collègues les meilleurs des techniciens for ever : **Mon Maxou** et toutes nos sorties entre foot, lasergame, bar à jeux, apéros, molkky, soirées ... Toujours le premier à qui on pense quand on veut faire un truc sympa ! A tous ces bons gâteaux à la farine d'arbre dont tu nous auras fait profiter également. **Nono, Agathe et Sarah**, mes totally spies de biochimie, un premier semestre qui n'aurait pas pu mieux se passer grâce à vous, des travailleuses de qualité, de collègues à amies il n'y a qu'un pas ! Vivement nos prochaines sorties, je continuerai à vous exploiter pour me faire des nattes jusqu'à la fin sachez-le. **Amélie**, mon petit chaton ronchon, tu sais déjà ce que je pense de toi, une personne en or et toujours 1000 projets incroyables dans la tête, reste comme tu es, vivement le barbecue dans ta jolie maison. Sans oublier **Servann** et toutes ses péripéties en soirée, et **Gaëtan** toujours partant pour aller boire un verre, promis je resterai plus tard que 21h ce soir.

Manon & Arnaud, rencontre inopinée et improbable, devenus de véritables amis. A tous nos apéros et dîners, avec mon bébé Arya préférée.

Road to toujours 0 niveau au CrossFit,

Que serait cette thèse sans un énorme clin d'œil aux copains du CrossFit avec qui je passe littéralement tout le reste du temps ou je ne suis pas au travail ! **Mon Elo**, teammate de choc, une rencontre inopinée mais toujours plus facile quand on se rend compte qu'on n'aime pas les humains toutes les 2 ! Entre connasses finalement toi et moi c'était une évidence. Et aussi parce que tu me prends toujours plus de cal au bike et que tu fais des super panacotta. Il est ou **Gaby ?** (bof, rien à dire, et non je n'achèterai toujours pas ton Monsieur cuisine, cordialement) et mon **Jérémi**, continue à me faire autant rire quand je viens juger les gens vers toi (non on ne fait jamais ça c'est faux), et que l'envie d'en balayer certains nous prend à tous les deux, et surtout psahtek les savates, cœur avec les doigts ! Sinon vous revoulez du riz peut-être ? **Loïc**, toi t'es là juste pour mon quota de personne LGBT on le sait. Merci quand même d'être mon confident finalement (par défaut oui car je n'ai pas trouvé beaucoup mieux), mes DM Instagram seraient fades sans tes insultes, tu sais ce que je pense de toi, tu es beau et fort même avec ta coupe de cheveux souvent approximative, ne doute jamais de toi, c'est toi tuesbeautuesparfaitjetaime.

J'ai remercié beaucoup de monde mais ne vous leurrez pas, en vrai je ne vous aime pas beaucoup et c'était pour faire plus de page dans cette petite thèse.

Mention spéciale,

A mon Clé,

Ta présence et ton soutien depuis toutes ces années m'auront été indispensables pour en arriver jusque-là, autant pendant les études que dans la vie de manière générale, on sait à quel point je ne suis pas facile à vivre mais tu as toujours tenu le coup presque sans broncher. Tu sais déjà tout, promis je vais finir par te racheter ton verre double paroi à 17€. N'oublie jamais qu'un jour je t'ai sauvé la vie, et toi tu as sauvé la mienne à ta manière.

Table des matières

REMERCIEMENTS.....	1
LISTE DES ABREVIATIONS	10
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	12
I. LE PATIENT.....	14
A. Anamnèse	14
1. Interrogatoire.....	14
2. Développement psychomoteur.....	15
B. Examen clinique.....	15
C. Examens d'imagerie	17
1. Radiographies du squelette	17
2. Échographie cardiaque	18
3. IRM cérébrale et médullaire	18
4. Autres examens.....	19
D. Examen neuropsychologique.....	20
E. Examens biologiques	20
II. LE SYSTEME ENDOSOME-LYSOSOME	22
A. L'endosome	22
1. Description	22
2. Maturation	23
B. Le lysosome.....	24
1. Découverte du lysosome	25
2. Description et rôles du lysosome	25
3. Contenu du lysosome	26
3.1. Les hydrolases lysosomales.....	26
3.2. Le système d'adressage des enzymes lysosomales par les récepteurs du mannose-6-phosphate (M6PR)	29
4. La membrane lysosomale	30
III. LES MALADIES DE SURCHARGE LYSOSOMALE.....	33
A. Définition	33
B. Physiopathologie	34
C. Généralités cliniques.....	36
D. Traitements disponibles.....	37
1. Enzymothérapie	37
2. Thérapie par réduction de substrat	38
3. Chaperons pharmacologiques	39
4. Transplantation de CSH.....	40
5. Thérapie génique	40
IV. LA GM1 GANGLIOSIDOSE.....	41
A. Généralités.....	41
B. Les gangliosides.....	41
1. Généralités	41
2. Rôle du ganglioside GM1.....	42
3. Biosynthèse	43
4. Dégradation	45

C.	<i>Physiopathologie</i>	47
1.	<i>Déficit en β-galactosidase</i>	47
1.1.	<i>La β-galactosidase</i>	49
2.	<i>Hypothèses physiopathologiques</i>	51
2.1.	<i>Voies cataboliques du GM1</i>	51
2.2.	<i>Effets du GM1 sur l'homéostasie cellulaire</i>	54
D.	<i>Présentation clinique</i>	54
1.	<i>Type I : infantile</i>	55
2.	<i>Type II : infantile tardif (IIa) et juvénile (IIb)</i>	56
3.	<i>Type III : adulte ou chronique</i>	56
E.	<i>Complications</i>	56
F.	<i>Diagnostic positif</i>	57
1.	<i>Clinique</i>	57
2.	<i>Biologique</i>	57
3.	<i>Génétique</i>	58
3.1.	<i>Le gène GLB1</i>	58
3.2.	<i>Examens génétiques</i>	60
G.	<i>Corrélations génotype-phénotype</i>	60
H.	<i>Traitement</i>	61
1.	<i>Enzymothérapie</i>	62
2.	<i>Thérapie de réduction de substrat</i>	63
3.	<i>Chaperons pharmacologiques</i>	64
4.	<i>Transplantation de cellules souches</i>	64
5.	<i>Thérapie génique</i>	65
V.	<i>Diagnostic différentiel</i>	66
A.	<i>GM2 Gangliosidose</i>	66
1.	<i>Physiopathologie</i>	66
2.	<i>Clinique</i>	66
B.	<i>Mucopolysaccharidoses</i>	67
1.	<i>Généralités</i>	67
2.	<i>La maladie de Morquio B</i>	68
2.1.	<i>Généralités</i>	68
2.2.	<i>Clinique</i>	68
2.3.	<i>Biomarqueurs</i>	70
2.4.	<i>Diagnostic génétique</i>	71
3.	<i>Autres mucopolysaccharidoses</i>	72
C.	<i>Oligosaccharidoses</i>	73
VI.	EXPLORATIONS BIOLOGIQUES	73
A.	<i>Dosage des oligosaccharides urinaires</i>	74
1.	<i>Chromatographie sur couche mince</i>	74
1.1.	<i>Méthode</i>	74
1.2.	<i>Résultats</i>	75
2.	<i>Spectrométrie de masse (LC-MS/MS)</i>	77
2.1.	<i>Méthode</i>	77
2.2.	<i>Résultats</i>	78
B.	<i>Caractérisation de l'anomalie génétique</i>	79
1.	<i>Séquençage Sanger</i>	79
1.1.	<i>Automate</i>	79
1.2.	<i>Définition</i>	79
1.3.	<i>Déroulement</i>	79
2.	<i>Méthode de séquençage des transcrits</i>	81
2.1.	<i>Extraction des ARN et amplification des ADNc</i>	81

3.	<i>Résultats</i>	81
3.1.	Étude de l'ADN génomique	81
3.2.	Contribution des outils de prédiction	84
3.3.	Étude des transcrits	85
3.3.1.	Analyse sur gel d'électrophorèse	85
3.3.2.	Séquence des ADNc	86
VII.	DISCUSSION ET CONCLUSION	87
A.	<i>Présentation clinique</i>	87
B.	<i>Aspects moléculaires</i>	91
VIII.	BIBLIOGRAPHIE	95

LISTE DES ABREVIATIONS

AAV : adeno-associated virus

AP1 : Adaptor-protein complex 1

AP4 : Adaptor-protein complex 4

AVS : auxiliaire de vie scolaire

B-Gal : β -galactosidase

BHE : barrière hématoencéphalique

CCM : chromatographie sur couche mince

CMD : cardiomyopathie dilatée

CMH : cardiomyopathie hypertrophique

CSH : cellules souches hématopoïétiques

CTSA : cathepsine A

DKO : double knock-out

EBP : protéine de liaison à l'élastine

EEA1 : Early Endosome Antigen 1

ERAD : Endoplasmic Reticulum-Associated protein Degradation

ERT : Enzyme Replacement Therapy (enzymothérapie substitutive)

FIV : fécondation in vitro

GAG : glycosaminoglycanes

Gal : galactose

GGA : Golgi-localizing Gamma-Adaptin

Glc : glucose

GP : glycoprotéine

GSL : glycosphingolipides

HexA : β -hexosaminidase A

HexB : β -hexosaminidase B

HTA : hypertension artérielle

ICV : intracérébroventriculaire

KO : knock-out

LAMP1 : Lysosome-associated membrane protein 1

LAMP2 : Lysosome-associated membrane protein 2

LCR : liquid céphalorachidien

LIMP1 : Lysosome-integral membrane protein 1
LIMP2 : Lysosome-integral membrane protein 2
M6P : mannose-6-phosphate
M6PR : récepteur du mannose-6-phosphate
MAP : menace d'accouchement prématurée
MBD : Morquio B disease
MPS : mucopolysaccharidose
NEU1 : sialidase (neuraminidase-1) lysosomale
NEU3 : neuraminidase 3
NOEV : N-octyl-4-épi- β -valienamine
PCN : périmètre crânien
PN : poids de naissance
PPCA : protéine protectrice carboxypeptidase/cathepsine A
RCIU : retard de croissance intra-utérin
RE : réticulum endoplasmique
SAP : saposine
SD : Sandhoff disease
SNC : système nerveux central
SRT : Substrate Reduction Therapy
TGF β : Transforming Growth Factor β
TGN : réseau trans-golgien
TN : taille à la naissance
TSD : Tay-Sachs disease
WT : wild type (sauvage)

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Courbe de croissance du patient

Figure 2 : Clichés radiographiques

Figure 3 : Clichés IRM en date du 16/10/23

Figure 4 : Bilan neuropsychologique de notre patient selon WISC-V

Figure 5 : Activité de la β -galactosidase acide, mesurée sur leucocytes

Figure 6 : Résultats du séquençage NGS de l'ADN du patient

Figure 7 : Représentation schématique d'un lysosome

Figure 8 : Formation du résidu mannose-6-phosphate

Figure 9 : Trafic de l'enzyme au sein du système endosome lysosome

Figure 10 : Protéines majeures de la membrane lysosomale

Figure 11 : Régulation de la synthèse du trafic intracellulaire des enzymes lysosomales

Figure 12 : Représentation schématique de la voie du lysosome et de l'autophagie dans les cellules normales et dans les cellules de maladie de surcharge lysosomale

Figure 13 : Représentation de la structure des gangliosides.

Figure 14 : Représentation schématique de la voie de biosynthèse et des structures des gangliosides

Figure 15 : Voie de dégradation des sphingolipides lysosomaux

Figure 16 : Défaut biochimique dans la gangliosidose GM1

Figure 17 : Images de microscopie électronique à transmission (TEM) de tissu du SNC félin

Figure 18 : Organisation en domaines de la β -Galactosidase humaine

Figure 19 : Structure dimérique de la β -Galactosidase humaine

Figure 20 : Schéma illustrant les voies de dégradation du ganglioside GM1 chez la souris

Figure 21 : Comparaison des phénotypes GM1 Gangliosidose chez l'homme et chez la souris

Figure 22 : Aspect en microscopie optique de lymphocytes vacuolés sur frottis sanguin

Figure 23 : Génotypes dans la gangliosidose GM1

Figure 24 : Résumé des phénotypes cliniques et moléculaires

Figure 25 : Option de prise en charge thérapeutique de la GM1 gangliosidose

Figure 26 : Structure du gène humain *GLB1* et mutations liées à la maladie de Morquio B

Figure 27 : Représentation schématique de la structure d'un oligosaccharide porté par une protéine N-glycosylée, et des étapes enzymatiques impliquées dans sa dégradation lysosomale

Figure 28 : Représentation schématique de la méthode par CCM

Figure 29 : Chromatographie sur couche mince (CCM) des oligosaccharides urinaires

Figure 30 : CCM représentant les oligosaccharides urinaires accumulés dans diverses oligosaccharidoses

Figure 31 : Analyse par LC-MS/MS des urines

Figure 32 : représentation schématique du séquençage Sanger

Figure 33 : Séquence de l'extrémité 3' de l'exon 11 du gène *GLB1* chez notre patient et ses parents

Figure 34 : Représentation schématique de l'épissage des pré-ARNm chez les eucaryotes

Figure 35 : Analyse des sites d'épissage sur la séquence normale de l'exon 11 du gène *GLB1*, et de la jonction exon-intron 11 selon le logiciel de prédiction Human Splicing Finder

Figure 36 : Analyse des sites d'épissage sur la séquence de *GLB1* portant la variation c.1143+2T>C, et de la jonction exon-intron 11 selon le logiciel de prédiction Human Splicing Finder.

Figure 37 : Analyse sur gel d'électrophorèse des produits d'amplification (RT-PCR) obtenus à partir des ARN extraits d'un tube de sang

Figure 38 : Séquence des ADNc de *GLB1* obtenus pour un témoin et notre patient

Figure 39 : Représentation schématique de l'excision de l'exon 11 chez le patient

Figure 40 : Évolution des scores de Vineland-3 en fonction de l'âge des patients

Tableau 1 : Exemples de protéines de la membrane lysosomale et leur implication en physiopathologie

Tableau 2 : Enzyme déficiente, substrat accumulé et gène en cause dans les MPS

Tableau 3 : Résumé des caractéristiques cliniques de la maladie de Morquio B

Tableau 4 : Résumé des caractéristiques cliniques des différentes formes de GM1 gangliosidose selon la littérature et celles de notre patient

Tableau 5 : Phénotypes associés aux variants de *GLB1* siégeant au niveau de l'exon 11, d'après les données de la base HGMD et de ClinVar

I. LE PATIENT

A. Anamnèse

Cette étude porte sur un patient de sexe masculin de 12 ans (né le 14/08/2011), initialement venu consulter dans le service d'Orthopédie pédiatrique du CHU Toulouse le 22/06/2022 pour un trouble de la marche avec douleur et fatigabilité en fin de journée.

1. Interrogatoire

L'interrogatoire retrouve un trouble de la marche ayant débuté dès l'âge de 7 ans et ne faisant que s'accroître depuis. Est rapportée une fatigabilité en fin de journée, accompagnée de douleurs au niveau des membres inférieurs (notamment au niveau de la malléole droite externe), de coxalgies et de douleurs au niveau du rachis de manière globale. Ces douleurs sont invalidantes, empêchant toute pratique sportive et nécessitant une dispense de sport à l'école. Les douleurs sont également associées à un manque de concentration et sa démarche particulière entraîne des moqueries de la part de ses camarades de classe (l'enfant est alors scolarisé en classe de 6^{ème}).

Au niveau personnel, on ne note pas d'antécédents particuliers. Ses parents ne seraient pas apparentés. C'est un enfant né à 39 SA par césarienne pour cause maternelle (fibromes utérins avec MAP), eutrope (PN 3,3kg, TN 51cm, PCN 34,5cm, APGAR 10/10) et ayant eu un développement moteur sans anomalie. La grossesse a été obtenue par FIV et a été marquée par un diabète gestationnel équilibré par de simples règles hygiéno-diététiques.

Au niveau familial, les antécédents retrouvent chez la grand-mère maternelle une dysthyroïdie et un décès à la suite d'un infarctus du myocarde. Le père de l'enfant est également porteur d'une dysthyroïdie traitée par Levothyrox, et les grands-parents paternels ont tous les deux un diabète de type 1. On ne note pas de difficulté d'apprentissage chez les parents.

2. Développement psychomoteur

La marche a été acquise à l'âge de 15 mois.

Au niveau du langage, les premiers mots ont été acquis tôt, mais on note un retard dans le langage oral entre 3 ans et 4 ans, résolutif après prise en charge orthophonique. L'acquisition de la lecture aurait été difficile en CP et acquise seulement en fin de CE1. Le patient décrit toujours actuellement des difficultés de compréhension du langage écrit. Un bilan orthophonique réalisé en CE2 aurait plutôt évoqué des difficultés de concentration et orienté vers un suivi en psychomotricité. Le patient a cependant été pris en charge deux ans en orthophonie pour un travail sur la lecture. Il bénéficie de l'aide d'une AVS notamment pour l'écriture.

B. Examen clinique

Actuellement (en date du 16/05/2024) notre patient mesure 1m55 pour 39kg, témoignant d'une croissance dans les normes pour son âge (Figure 1).

Il est observé une démarche dandinante, avec les pieds et les rotules orientés vers l'intérieur.

Le reste de l'examen clinique retrouve un trouble de l'occlusion dentaire ainsi qu'une hyperlaxité prédominante au niveau des doigts et des genoux, une asymétrie au niveau du thorax et un pectus carinatum.

Le rachis est légèrement enraidit mais ne présente pas de déformations.

Les mobilités de hanches sont conservées, l'abduction quant à elle est limitée à 30° (norme à 45°) et déclenche une douleur au niveau des adducteurs et au-delà.

Un bilan plus poussé de kinésithérapie retrouve une asymétrie des rotations (majoration de la rotation interne), un flexum au niveau des hanches, un metatarsus varus au niveau des deux pieds, une scoliose thoracique haute à convexité droite, une colonne lordosée et un rachis globalement raide.

Le bilan musculaire met en évidence une faiblesse musculaire majeure.

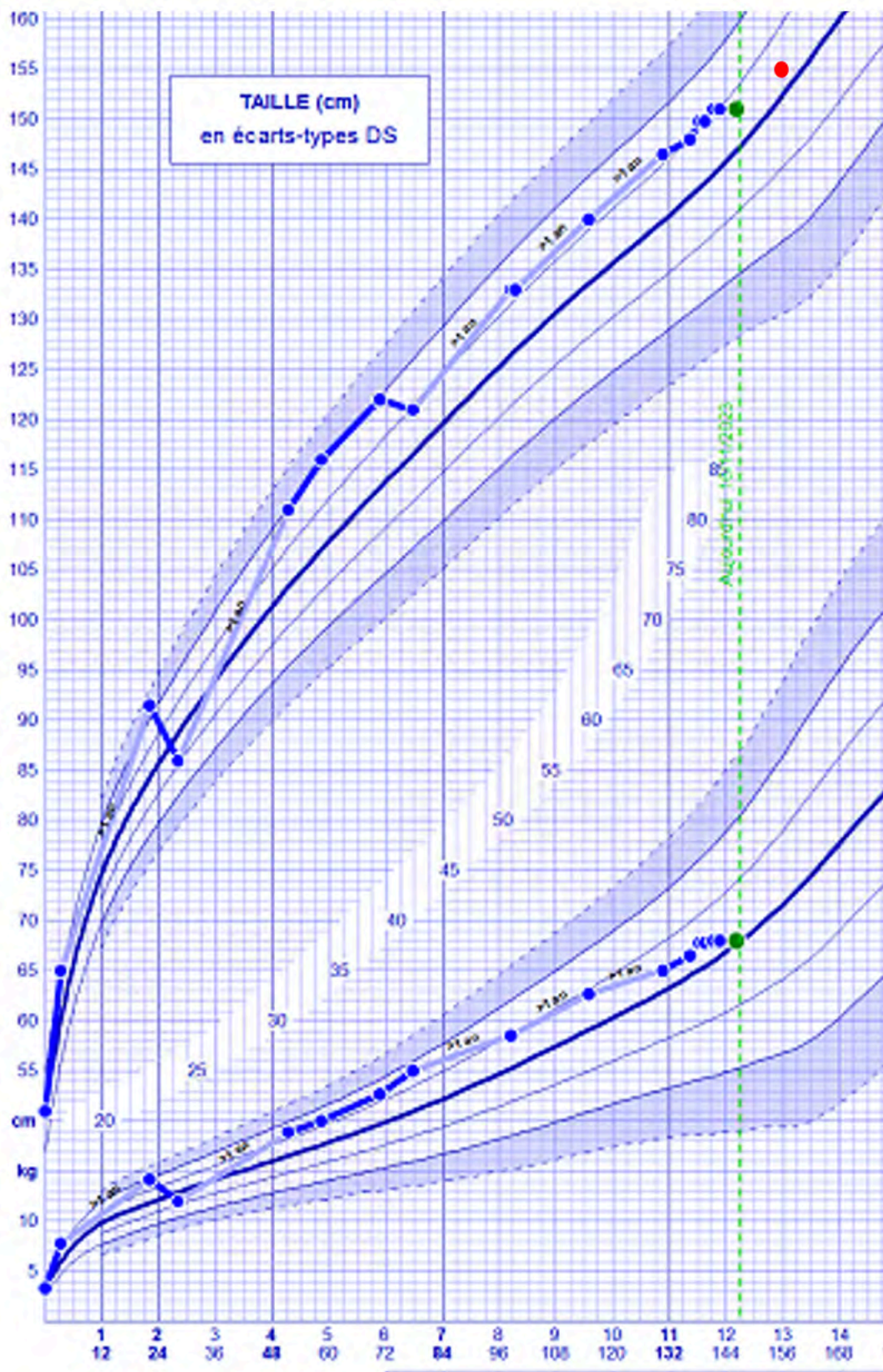


Figure 1 : Courbe de croissance du patient

C. Examens d'imagerie

1. Radiographies du squelette

Des radiographies osseuses ont été réalisées, retrouvant une dysplasie épiphysaire des têtes fémorales de manière bilatérale ainsi que des anomalies acétabulaires.

A l'étage cervical on retrouve un minime antélisthésis de C2 sur C3 de 5mm.

L'analyse des corps vertébraux à l'étage dorsal de profil était plus difficile : aspect de dos plat, avec effacement des courbures physiologiques. Attitude scoliotique de convexité droite (Figure 2A), sans véritable rotation vertébrale, avec une vertèbre en rostre (hypoplasique) en L2 (Figure 2B) sans cyphose lombaire marquée.

On note un discret spondylolisthésis de L5 sur S1 de grade I (Figure 2B).

Il est retrouvé un aspect dysplasique des épiphyses proximales des deux fémurs (Figure 2A), avec des noyaux d'ossification affaissés.

La radiographie du membre supérieur gauche (Figure 2C) retrouve un âge osseux estimé à 11 ans. A noter l'absence de lésion ostéolytique ou ostéocondensante suspecte et l'absence d'anomalie des épiphyses. On retrouve un discret décalage radio-ulnaire aspécifique.

Les clichés dynamiques (Figures 2D et 2E) n'ont montré aucune anomalie.

Ces images radiographiques, associées aux signes cliniques du patient, font suspecter une maladie osseuse telle qu'une maladie de surcharge.

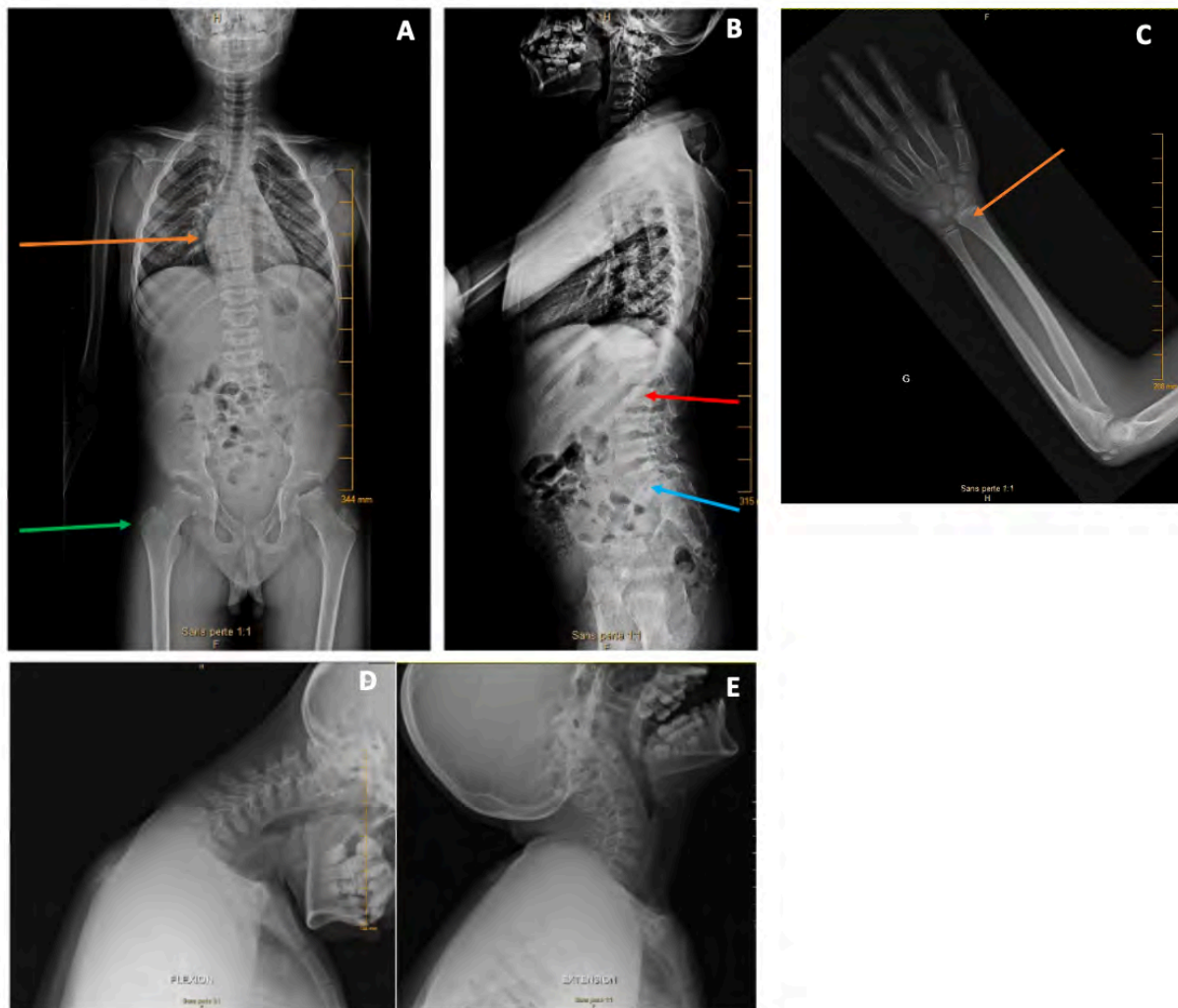


Figure 2 : Clichés radiographiques. (A), rachis de face en date du 20/02/23. Flèche orange : scoliose de convexité droite, flèche verte : dysplasie épiphysaire du fémur, (B), rachis de profil en date du 20/02/23. Flèche bleue : spondylolisthésis de L5 sur S1, flèche rouge : vertèbre L2 hypoplasique. (C), radiographie du membre supérieur gauche en date du 22/05/23. Flèche orange : discret décalage radio-ulnaire. (D) et (E), clichés dynamiques du rachis cervical en date du 22/05/23 : sans anomalies

2. Échographie cardiaque

L'échographie cardiaque retrouve une valve aortique quadricuspide, non sténosante, siège d'une micro-fuite centrale. Il n'y a pas d'autre anomalie constatée.

Une échocardiographie de contrôle sera effectuée dans 2 ans.

3. IRM cérébrale et médullaire

L'IRM n'a pas mis en évidence d'anomalie de signal ou de morphologie parenchymateuse sus ou sous-tentorielle. Il y a une bonne visibilité des espaces péri-cérébraux de la convexité et un aspect modérément élargi du système ventriculaire, sans signe d'activité toutefois.

On trouve également un kyste arachnoïdien rétro-cérébelleux non compressif (Figures 3A et 3B).

Sont notés aussi des discopathies débutantes cervicales avec une perte du signal hydrique, et quelques débords discaux modérés sans retentissement médullaire évident. On retrouve également une platyspondylie principalement de C3 à C7 inclus (Figure 3B).

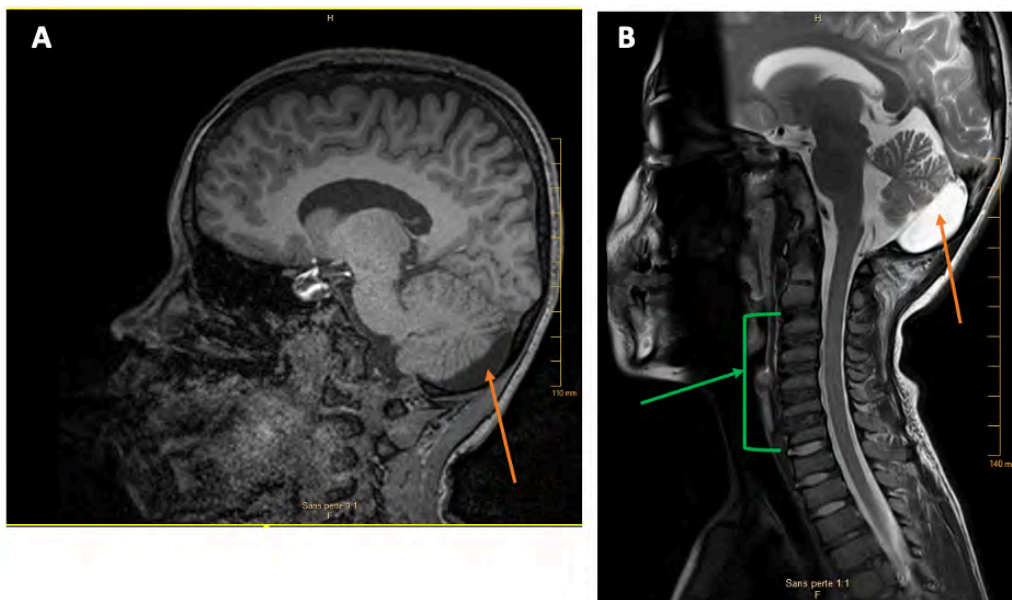


Figure 3 : Clichés IRM en date du 16/10/23. (A), IRM cérébrale. La flèche orange indique la présence d'un kyste arachnoïdien rétro-cérébelleux. (B), IRM médullaire. Flèche orange : kyste arachnoïdien rétro-cérébelleux ; flèche verte : platyspondylie de C3 à C7.

4. Autres examens

Échographie abdominale et rénale le 19/05/2023 : sans anomalies.

Examen ophtalmologique en août 2023 : diagnostic d'hypermétropie forte très probablement actuellement sous corrigée. L'examen anatomique ne retrouvait pas de macula rouge cerise ; on note la présence d'une légère atrophie optique, pas de nystagmus dans les regards excentrés.

Examen ORL en mai 2023 : la nasofibroscopie permet d'éliminer toute hypertrophie des végétations adénoïdiennes. Légère déviation septale avec des fosses nasales globalement étroites. Tympan parfaits, l'audiométrie est également normale.

D. Examen neuropsychologique

Un bilan neuropsychologique a été réalisé le 27/07/23 (Figure 4), retrouvant des capacités cognitives dans la norme basse avec un profil hétérogène et une faiblesse de la vitesse de traitement et en mémoire de travail. Il est noté des difficultés d'expression verbale orale pendant le bilan ainsi que des difficultés d'attention et d'impulsivité (il est notamment déconcentré par le bruit, gigote pendant les épreuves et n'attend pas toujours la fin des consignes). Son entrée au collège est donc soutenue par la présence d'une AESH.

Indice de Compréhension Verbale : ICV = 86
Similitudes = 7
Vocabulaire = 8
Indice Visuo-Spatial : IVS = 89
Cubes = 7
Puzzles visuels = 9
Indice de Raisonnement Fluide : IRF = 94
Matrices = 10
Balances = 8
Indice de Mémoire de Travail : IMT = 74
Mémoire des chiffres = 4
Mémoire des images = 7
Indice de Vitesse de Traitement : IVT = 86
Code = 9
Symboles = 6
Quotient Intellectuel Total : QIT = 82 [77-89]

Figure 4 : Bilan neuropsychologique de notre patient selon WISC-V. Les indices situés entre 85 et 115 et les notes standard des subtests situées entre 7 et 13 sont dans la moyenne par rapport à l'âge. Notre patient se situe dans la moyenne basse par rapport à ce qui est attendu à son âge.

E. Examens biologiques

De multiples examens biologiques sont réalisés.

Les bilans de biochimie générale et d'hématologie sont sans anomalies particulières.

L'analyse qualitative des oligosaccharides urinaires à la recherche d'une maladie lysosomale retrouve un résultat anormal : présence sur le chromatogramme des urines de composés migrant comme des oligosaccharides selon un profil évocateur de GM1-Gangliosidose ; résultat à confronter aux dosages des enzymes lysosomales leucocytaires et de l'analyse mutationnelle du gène *GLB1* (cf. chapitre VI.3).

De ce fait, le dosage de plusieurs enzymes leucocytaires et plasmatiques impliquées dans différents types de maladies lysosomales a été effectué, dont celui de la β -glucocérébrosidase et la chitotriosidase pour la recherche d'une maladie de Gaucher, et la β -galactosidase pour la recherche d'une mucopolysaccharidose ou gangliosidose.

Le résultat qui va nous intéresser est le déficit de l'activité de l'enzyme β -galactosidase (Figure 5).

RECHERCHE DE MALADIES LYSOSOMALES				
Activité des hydrolases lysosomales cellulaires (en nmol/h/mg de protéines)				
Enzymes des mucopolysaccharidoses				
	<u>Patient</u>	<u>Témoin</u>	<u>Antériorités</u>	<u>Date</u>
Bêta-galactosidase (MPS4B)	8	254		(LT)
Commentaires	Activité leucocytaire de la beta-galactosidase acide nettement abaissée, évoquant un (LT) état homozygote pour une maladie de Morquio type B (mucopolysaccharidose de type IVB) ou une GM1-gangliosidose juvénile. A CONTROLER Prévoir l'analyse mutationnelle du gène GLB1. <small>(selon Wenger & Williams, in Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics : A Laboratory Manual, New York : Wiley-Liss, 1991, pp. 587-617.)</small>			

Figure 5 : Activité de la β -galactosidase acide, mesurée sur leucocytes.

Par la suite, une analyse génétique a été effectuée à la recherche d'une GM1 gangliosidose ou d'une maladie de Morquio B, deux maladies impliquant le déficit de la même enzyme. Ces analyses ont permis d'identifier une variation homozygote c.1143+2T>C, jusque-là non décrite, dans le gène *GLB1* (Figure 6). Elle sera discutée dans le chapitre VI.B. Le même variant a été retrouvé à l'état hétérozygote chez les deux parents.

ANALYSES DE BIOLOGIE ET GENETIQUE MOLECULAIRES

Nature du prélèvement : ADN extrait à partir d'un culot de leucocytes - Kit QiaAMP DNA Mini sur extracteur Qiacube (Qiagen).

Technique(s) utilisée(s) : Séquençage nouvelle génération sur NextSeq 500/500Dx (Custom Enrichment Panel 350 pb, Illumina), par capture des exons et jonctions introns-exons (+/- 25pb).

Etude d'un panel de gènes impliqués dans les Sphingolipidoses

Panel analysé : (LT)

ACER3 (NM_018367.7), ARSA (NM_000487.5), ASAH1 (NM_177924), ASAH2 (NM_001143974.2), GALC (NM_000153.4), GBA (GBA1, NM_000157.4), GBA2 (NM_020944.3), GM2A (NM_000405.5), GLA (NM_000169.3), GLB1 (NM_000404.4), HEXA (NM_000520.6), HEXB (NM_000521.4), NEU1 (NM_000434.4), PSAP (NM_001042465.1), SCARB2 (LIMP2, NM_005506.4), SMPD1 (NM_000543.4), SMPD3 (NM_018667.4), SMPD4 (NM_017751.4).

RESULTATS :

Gène(s) (cf NM ci-dessus)	Exon- Intron	Nomenclature nucléotidique	Nomenclature protéique	Statut	Classe ACMG
GLB1	11	c.1143+2T>C c.1143+2T>C		Homozygote	4

Profondeur moyenne : 478

Couverture à 30X : 100%

Figure 6 : Résultats du séquençage NGS de l'ADN du patient (isolé à partir de leucocytes), mettant en évidence la variation homoallélique c.1143+2T>C à l'extrémité 3' de l'exon 11 du gène *GLB1*.

Le déficit enzymatique en β -galactosidase ainsi que l'analyse génétique orientent donc le diagnostic vers une gangliosidose GM1, une lipidose appartenant au groupe des maladies de surcharge lysosomale.

Nous savons que dans cette pathologie, il prédomine une forme neurologique, or, notre patient présente à ce jour une forme squelettique modérée.

Nous nous sommes donc posés la question de savoir pourquoi notre patient, porteur d'un variant homozygote, n'était pas atteint d'une forme classique neurodégénérative de GM1 gangliosidose mais d'une forme particulière osseuse atténuée.

II. LE SYSTEME ENDOSOME-LYSOSOME

A. L'endosome

1. Description

Les endosomes sont des organelles de plus grande taille que le lysosome.

Il existe deux types d'endosomes : l'endosome précoce et l'endosome tardif.

L'endosome précoce a un pH modérément acide qui favorise la dissociation entre les ligands et leurs récepteurs. Il reçoit les composés extracellulaires endocytés au niveau de la membrane cytoplasmique. Après endocytose, il réalise un tri des différents composés en distinguant ceux à dégrader et ceux à recycler.¹

Les éléments à dégrader restent dans l'endosome précoce et sont séquestrés dans des vésicules intraluminales (IVL) de 50 à 80 nm de diamètre qui se forment par bourgeonnement.

Les composés à recycler sont ensuite dirigés vers l'endosome de recyclage via un système de tubules émergeant de l'endosome. Ils sont adressés à la membrane plasmique ou à l'appareil de Golgi.

L'endosome précoce va mûrir et se transformer en endosome tardif après des phénomènes de fusion et de scission des vésicules aboutissant à un tri protéique.

Le nombre de vésicules intraluminales augmente et le pH diminue en lien avec l'activité d'une pompe à protons ATP-dépendante appelée V-ATPase.

La dégradation des composés débute dans l'endosome tardif et se termine dans le lysosome.²

2. Maturation

La distinction entre endosome précoce et endosome tardif est difficile, mais certains marqueurs aident à les distinguer.

Les endosomes précoces contiennent de la transferrine liée à son récepteur qui est recyclée et réadressée à la membrane plasmique. La transferrine est donc retrouvée en grande quantité dans l'endosome précoce alors que son taux est faible dans l'endosome tardif.

Le nombre de vacuoles intraluminales est corrélé à la concentration de transferrine internalisée. L'endosome précoce contient généralement une à huit vésicules intraluminales et l'endosome tardif en contient au moins neuf.

Les marqueurs protéiques EEA1 (*Early Endosome Antigen 1*) et Rab5^{3,4} sont spécifiques des endosomes précoces. Rab11 apparaît progressivement au cours de la maturation de l'endosome précoce. Rab5 disparaît pour être échangé contre Rab9 et EEA1 disparaît.

L'endosome tardif évolue progressivement en lysosome par des phénomènes de maturation et de fusion avec des lysosomes préexistants².

B. Le lysosome

Les lysosomes sont des organites cellulaires du cytoplasme, caractérisés par un pH luminal acide et qui contiennent des enzymes (spécifiquement, des hydrolases acides) chargées d'assimiler les déchets (appelés métabolites) produits par les cellules (Figure 7). Grâce à leur fonction de dégradation, ils permettent de recycler et de renouveler les molécules complexes, qu'elles soient issues de l'intérieur ou de l'extérieur de la cellule. Le lysosome assure le maintien de l'homéostasie cellulaire en transportant des ions à travers la membrane⁵, en apportant à la cellule les petites molécules (oses, acides gras, acides aminés, ...) dont elle a besoin pour fonctionner et en dégradant des biomolécules ou des organelles non fonctionnelles. Le lysosome est donc aussi impliqué dans une des grandes fonctions intracellulaires : l'autophagie². Cette fonction de digestion et d'assimilation est assurée par des protéines présentes dans les lysosomes.⁴

Un dysfonctionnement lysosomal est un facteur essentiel de pathologie pouvant provoquer neuro-inflammation et neurodégénérescence.⁵

Pour chacune des maladies lysosomales, un défaut d'un gène spécifique entraîne la non-production ou la production insuffisante d'une protéine chargée de l'assimilation des métabolites, ou bien la synthèse d'une protéine mutante ayant perdu sa fonction. Les métabolites s'accumulent alors, entraînant des lésions cellulaires et le dysfonctionnement des organes concernés.^{6,7}

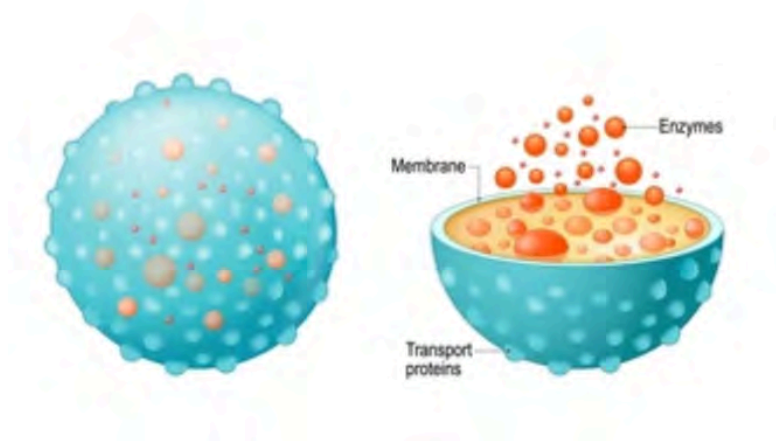


Figure 7 : Représentation schématique d'un lysosome (<https://www.alamyimages.fr>)

1. Découverte du lysosome

Ils ont été découverts par hasard par Christian de Duve en 1955^{3,4,8-11}, dans son laboratoire de l'université catholique de Louvain, en Belgique. Il étudiait les effets de l'insuline dans le foie et il a supposé que la connaissance de la localisation subcellulaire de la glucose-6-phosphatase permettait de mieux comprendre l'action hépatique de l'insuline. Il étudia la répartition de l'activité phosphatasique acide sur des homogénats d'hépatocytes. Certaines fractions subcellulaires contenaient une très grande quantité de phosphatase acide, et l'ont amené à proposer que cette phosphatase (et d'autres enzymes) était séquestrée dans des organites membranaires mais « relargable » après éclatement de ces organelles.⁷

En 1962, Novikoff et Essner décrivent les lysosomes en microscopie électronique sous forme de corpuscules dans les cellules eucaryotes, limités par une membrane et ayant une forte activité phosphatasique acide².

2. Description et rôles du lysosome

Les lysosomes sont des organelles intracytoplasmiques sphériques ou ovalaires, de diamètre allant de 0,05 à 0,5 μ m, et limitées par une membrane simple, tapissée d'un glycocalyx du côté luminal.

Ils sont présents dans toutes les cellules eucaryotes³ sauf les globules rouges. Leur contenu est riche en protons et en calcium ionisé (Ca⁺⁺). Ils ont un pH compris entre 4,5 et 5,5^{3,4} et diffèrent des endosomes par leur degré d'acidification. Ils ont une densité élevée notamment en microscopie électronique.²

Les lysosomes contiennent une soixantaine d'hydrolases acides différentes⁴ qui participent à la dégradation des macromolécules¹¹ et des organelles endommagées en monomères (dégradation des protéines en acides aminés, des polysaccharides en monosaccharides, des lipides complexes en acides gras libres, ...) ^{3,6,10}, et des protéines activatrices localisées dans la matrice.

La membrane lysosomale contient quant à elle plus d'une vingtaine de protéines différentes : protéines de transport, canaux ioniques, pompes à protons...¹²

Le lysosome ne contient pas de récepteurs au mannose-6-phosphate ce qui le différencie des endosomes.¹

3. Contenu du lysosome

3.1. Les hydrolases lysosomales

Les hydrolases lysosomales sont des enzymes ayant une activité optimale à un pH situé entre 4,5 et 5,5, qui coupent une molécule en présence d'eau.

Elles peuvent dégrader de nombreuses macromolécules telles que les protéines, lipides, acides nucléiques, glucides...⁴

La dénomination des hydrolases a été définie selon la nature biochimique des substrats à dégrader : protéines - protéases, lipides - lipases, acides nucléiques - nucléases, glucides - glycosidases...⁷

Ces enzymes nécessitent parfois pour fonctionner la présence de cofacteurs et de protéines activatrices. Ainsi, l'activité des enzymes impliquées dans la dégradation de certains sphingolipides nécessite la présence de « protéines activatrices des sphingolipides » (les SAP, *sphingolipid activator protein*) également appelées saposines². Les mutations affectant ces protéines activatrices miment d'un point de vue clinique le déficit de l'hydrolase activée par une de ces protéines⁷.

Les hydrolases lysosomales sont synthétisées au niveau du réticulum endoplasmique (RE) puis sont ensuite adressées à l'appareil de Golgi où elles vont subir des modifications post-traductionnelles, notamment des réactions de glycosylation et de phosphorylation.

La phosphorylation d'un résidu mannose au niveau d'une chaîne glucidique permet l'adressage de l'enzyme au lysosome ; elle est catalysée par deux enzymes^{12,13} (Figure 8) :

- La N-acétylglucosamine-1-phosphotransférase (GlcNAc-1-phosphotransférase) qui assure le transfert d'un résidu N-acétylglucosamine-1-phosphate sur l'hydroxyle du carbone 6 d'un résidu mannose⁹.
- La deuxième enzyme, la N-acétylglucosamine-1-phosphodiesterase α -N-acétylglucosaminidase, assure le clivage du résidu N-acétylglucosamine, ce qui démasque le mannose-6-phosphate (M6P).

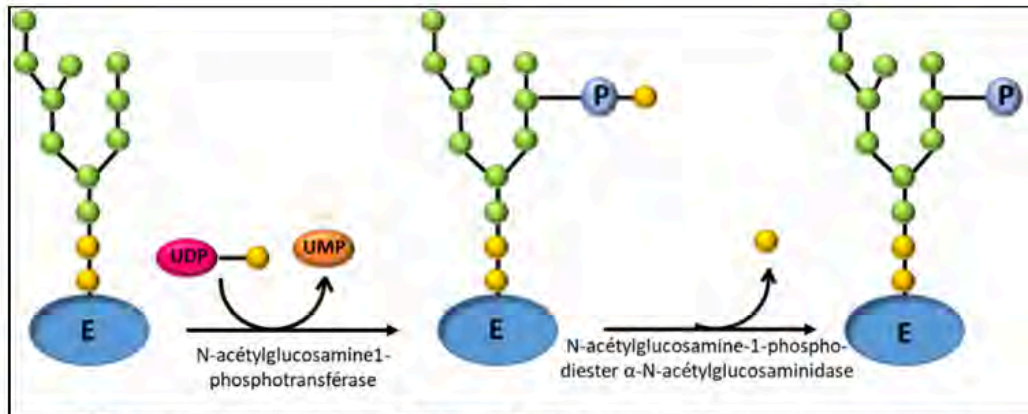


Figure 8 : Formation du résidu mannose-6-phosphate. Après la glycosylation, une majorité des enzymes lysosomales est phosphorylée sur un résidu mannose d'un arbre oligosaccharidique. La N-acetylglucosamine-1-phosphotransférase assure le transfert d'un résidu N-acetylglucosamine-1-phosphate puis la N-acetylglucosamine-1-phospho-diester α-N-acetylglucosaminidase clive le résidu N-acetylglucosamine, ce qui démasque le mannose-6-phosphate (d'après la thèse de Lénaig ABILY-DONVAL²).

La plupart des enzymes lysosomales parviennent jusqu'au lysosome au moyen d'un signal de reconnaissance (généralement du mannose-6-phosphate) et de ses récepteurs correspondants. Le résidu mannose-6-phosphate permet à l'enzyme d'être adressée à l'endosome puis au lysosome via sa liaison aux récepteurs du mannose-6-phosphate (M6PR) (Figure 9).^{4,14,15}

Les lysosomes ne possèdent pas de M6PR, mais ils sont capables de fusionner avec les endosomes tardifs et les autophagosomes¹². Ils reçoivent donc leur contenu via des mécanismes d'endocytose ou via des voies de biosynthèse après fusion avec l'endosome tardif.

La dégradation du matériel endosomal et autophagosomal se déroule au moment de la fusion avec le lysosome aboutissant à la formation des endolysosomes et des autolysosomes. La digestion des substrats endocytés et autophagiques débute dans les endolysosomes et les autolysosomes puis se termine dans le lysosome sous l'action des hydrolases acides.

La dissociation entre l'hydrolase et le récepteur mannose-6-phosphate (M6PR) se fait lors de l'acidification avant d'atteindre le lysosome. Le M6PR est ensuite recyclé vers l'appareil

de Golgi (et la membrane plasmique) pour recruter d'autres protéines lysosomales et les adresser au lysosome.

D'autres mécanismes d'adressage au lysosome indépendants du mannose-6-phosphate existent : les protéines activatrices, cofacteurs des enzymes lysosomales, sont adressées au lysosome via un récepteur appelé sortiline¹⁴. La phosphatase acide lysosomale et la β -glucocérébrosidase ne possédant pas de résidus mannose-6-phosphate, la phosphatase acide lysosomale atteint l'endosome par endocytose grâce à un motif tyrosine dans son domaine cytosolique qui lui permet d'être endocytée. La β -glucocérébrosidase va se fixer à la protéine LIMP-2 qui va l'adresser au lysosome^{2,15}.

Comme chaque enzyme intervient à un niveau précis dans la cascade de dégradation, la déficience d'une seule hydrolase créera une incapacité à dégrader le reste de la macromolécule⁷.

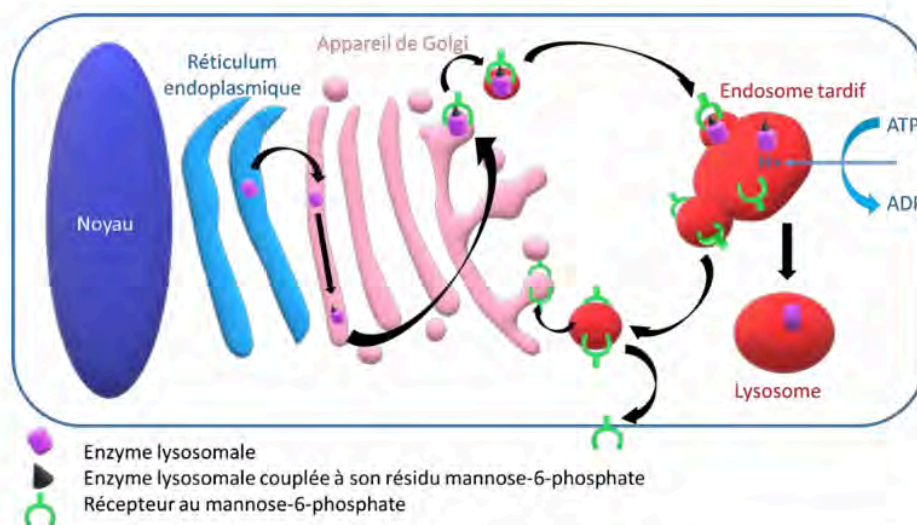


Figure 9 : Trafic de l'enzyme au sein du système endosome lysosome. Les enzymes lysosomales sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique puis subissent des maturations dans l'appareil de Golgi qui permettent notamment la formation d'un résidu mannose-6-phosphate. Elles sont par la suite adressées vers l'endosome après liaison à un récepteur mannose-6-phosphate. Après acidification, les hydrolases deviennent actives et se détachent de leur récepteur qui va alors être recyclé pour retourner vers l'appareil de Golgi. Ces récepteurs peuvent aussi se retrouver au niveau de la membrane cytoplasmique (d'après la thèse de Lénaig ABILY-DONVAL²).

3.2. Le système d'adressage des enzymes lysosomales par les récepteurs du mannose-6-phosphate (M6PR)

Structure des récepteurs :

Les M6PR sont présents dans la plupart des cellules de mammifères. Il en existe deux types : les récepteurs cation-indépendants (CI-M6PR, 300 kDa) et les récepteurs cation-dépendants (CD-M6PR, 46 kDa).

Ces deux récepteurs sont des protéines glycosylées et fonctionnent sous forme d'homodimères reliés de manière non covalente.

Le domaine luminal du récepteur CI-M6PR se compose de 15 unités répétées avec deux sites de liaison au mannose-6-phosphate alors que le récepteur CD-M6PR se compose de 159 acides aminés avec un seul site de liaison au mannose-6-phosphate.⁹

Le site de fixation reconnaît spécifiquement les motifs mannose-6-phosphate présents à la surface des précurseurs des hydrolases lysosomales nouvellement synthétisées².

Trafic des M6PR : transport et recyclage :

Les M6PR ciblent une grande majorité des hydrolases lysosomales nouvellement synthétisées à partir de l'appareil de Golgi.

Ils sont localisés à l'état basal dans le réseau transgolgien (TGN), la membrane plasmique et l'endosome dans les zones riches en clathrine. Ces zones forment des vésicules de transport par un phénomène de bourgeonnement qui vont alors se diriger vers l'endosome tardif.¹²

Il existe des protéines adaptatrices (GGA et AP-1) qui favorisent la concentration des M6PR dans les zones riches en clathrine¹⁶. En cas de localisation du M6PR au niveau de la surface de la cellule, l'ensemble enzyme-récepteur M6PR est internalisé par l'intermédiaire de la protéine adaptatrice AP-2 et rejoint l'endosome précoce.

L'acidité de l'endosome tardif favorise la dissociation entre le récepteur M6PR et son ligand, l'enzyme. Les M6PR sont ensuite réadressés au TGN ou à la membrane cytoplasmique pour être recyclés et réutilisés^{2,9}.

Rôles des récepteurs M6PR :

Le rôle principal des récepteurs M6PR est l'adressage des enzymes lysosomales à l'endosome.⁹ Il n'y a pas de rôle spécifique à chaque M6PR, mais certaines hydrolases lysosomales ont une affinité préférentielle pour le CD-M6PR ou pour le CI-M6PR.

Par exemple, le CD-M6PR a une liaison plus forte pour son ligand en présence de cations divalents. Les CI-M6PR permettent l'endocytose des hydrolases lysosomales, ce qui n'est pas le cas des CD-M6PR en conditions physiologiques. Le CI-M6PR a également d'autres fonctions qui lui sont propres telles que la régulation des taux circulants d'Insulin-like growth factor II (IGFII) au cours du développement embryonnaire, l'activation du Transforming Growth Factor β (TGF β), l'activation de l'apoptose médiée par l'acide rétinoïque ou par internalisation du granzyme B.

Le CI-M6PR est également un potentiel agent suppresseur de tumeur du fait de son action sur ces différents facteurs de croissance².

4. La membrane lysosomale

Les hydrolases lysosomales sont isolées du reste du cytoplasme grâce à une membrane relativement imperméable, composée d'une seule bicouche phospholipidique de 2 à 10 nm d'épaisseur, et entourée de protéines membranaires.³

Cette membrane permet de maintenir les hydrolases dans un environnement acide où leur efficacité est maximale et évite leurs éventuels effets indésirables en dehors du lysosome. Elle est également imperméable à certains petits composés monomériques libérés par dégradation qui nécessitent, de fait, des protéines spécifiques pour leur transport à l'extérieur du lysosome².

Il existe plus de 120 protéines membranaires lysosomales, qui ont des rôles variés assurant le bon fonctionnement du lysosome : import et export de composants, acidification du contenu du lysosome, fusion avec d'autres vacuoles ou vésicules du cytoplasme notamment les endosomes, communication avec les autres organelles, ...^{9,17}

Le déficit d'une seule de ces protéines peut induire une maladie sévère (Tableau 1).

Protéine membranaire	Gène	OMIM	Pathologie associée
LAMP2	LAMP2	300257	Maladie de Danon
LIMP 2	SCARB2	602257	Syndrome AMRF (<i>Action myoclonus renal failure</i>)
Transporteur acide sialique/glucuronique	SLC17A5	269920	Maladie de Salla
Transporteur de la cystine	CTNS	219800	Cystinose
Héparane sulfate α glucosaminide N-acétyltransférase	HGSNAT	252930	Mucopolysaccharidose III C
Transporteur des cobalamines	LMBRD1	277380	Acidémie méthylmalonique avec homocystinurie type cblF
CLN 3	CLN3	204200	Céroïde lipofuscinose type 3
CLN7	CLN7	610951	Céroïde lipofuscinose type 7
Sortiline (récepteur de la prosaposine et de la sphingomyélinase acide)	SORT1	602458	Maladie d'Alzheimer, cancer

Tableau 1 : Exemples de protéines de la membrane lysosomale et leur implication en physiopathologie (d'après²).

Une vingtaine de protéines de transport a été identifiée assurant le transport des acides aminés, des petites protéines, des sucres, des ions, des nucléotides, et des vitamines.

Plus de la moitié de ces protéines est représentée par des protéines fortement glycosylées (Figure 10) : LAMP1 et LAMP2 (*Lysosome-associated membrane protein 1 et 2*)¹⁷, LIMP1/CD63 et LIMP2 (*Lysosome-integral membrane protein 1 et 2*).

LAMP1 et LAMP2 forment une couche de type glycocalyx à l'intérieur de la membrane, qui joue le rôle de barrière protectrice contre l'autodigestion de la membrane par les enzymes lytiques de la lumière lysosomale.³ Le domaine intralysosomal de LAMP1 et LAMP2 représente la majeure partie de ces protéines⁹. Elles ont un seul domaine transmembranaire et un domaine C-terminal cytosolique. Leur poids moléculaire se situe entre 40 et 45 kDa avant glycosylation et 120 kDa après glycosylation. La glycosylation leur permet de jouer ce rôle protecteur.^{2,17}

LIMP2 est un récepteur indépendant des M6PR, elle cible les lysosomes principalement via la voie « directe » du TGN vers les lysosomes. Elle joue un rôle de protection du fait de sa glycosylation, mais constitue également un récepteur de tri et de transport pour la β -glucocérébrosidase⁹. Sa surexpression peut induire une augmentation du nombre d'endosomes et de lysosomes. Elle peut perturber le trafic dans le système endosome/lysosome¹². Elle contient deux domaines transmembranaires avec des extrémités N et C-terminales situées dans le cytosol (Figure 10).^{2,15}

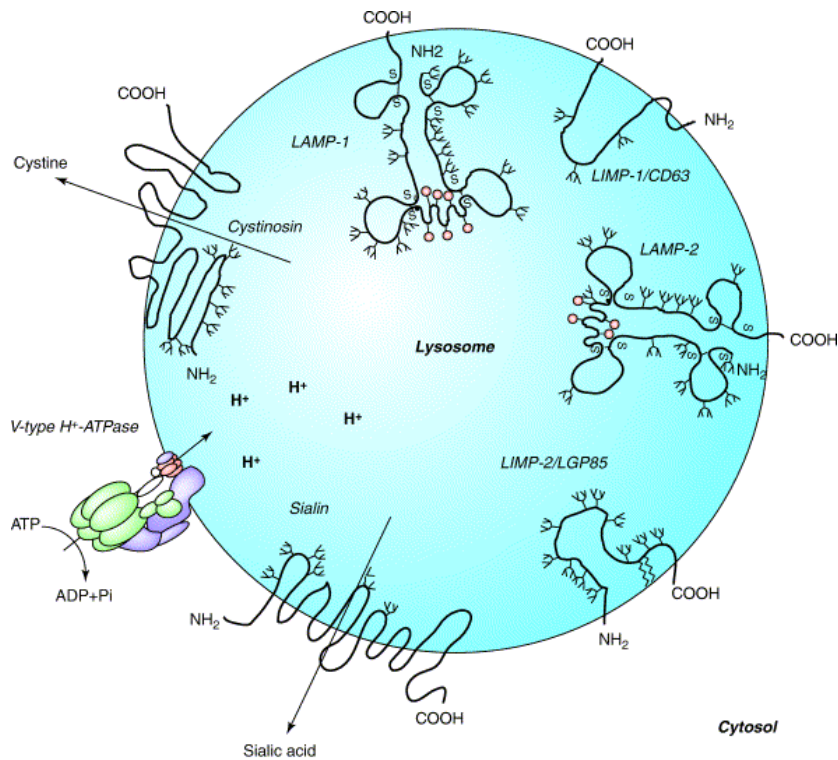


Figure 10 : Protéines majeures de la membrane lysosomale (d'après Eskelinen et al.⁶⁵)

D'autres protéines membranaires moins abondantes ont pu être reconnues après identification du gène responsable de la maladie qui les implique.

Les protéines transmembranaires lysosomales peuvent être ciblées par les protéines adaptatrices telles que les protéines hétérotétramériques AP1 à AP4 (*Adaptor-protein complex*) ou les protéines de la famille GGA (*Golgi-localizing Gamma-Adaptin*)¹⁶. Ces deux familles de protéines adaptatrices permettent la ségrégation des protéines lysosomales et l'encapsulation dans des vésicules de clathrine.^{2,14}

Les deux M6PR sont codés par des gènes qui font partie du réseau CLEAR (*TRIER1, SCARB2, M6PR, IGF2R, NAGPA* et *GNPTG*) qui contiennent un ou plusieurs sites de liaison pour le TFEB et sont sensibles à l'activation ou à la surexpression du TFEB. Cela suggère que l'expression des protéines lysosomales doit être coordonnée avec celle de leurs protéines modificatrices et de leurs récepteurs de tri afin de permettre une biogenèse efficace des lysosomes et, vraisemblablement, des réponses appropriées aux stimuli externes et internes (Figure 11)⁹.

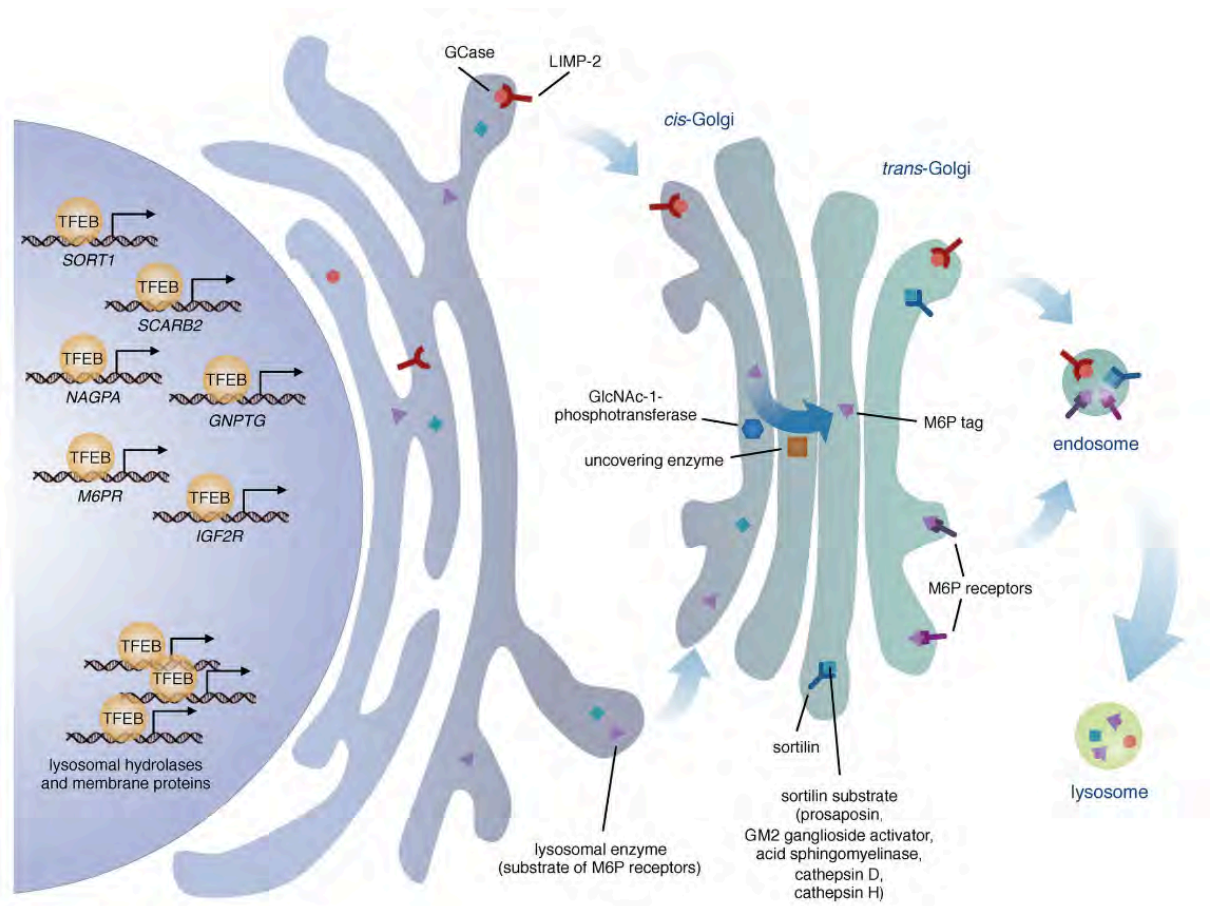


Figure 11 : Régulation de la synthèse du trafic intracellulaire des enzymes lysosomales : TFEB module l'expression de diverses enzymes lysosomales et de leurs transporteurs : LIMP-2 (*SCARB2*), la sortiline (*SORT1*) et les récepteurs du mannose-6-phosphate (M6P) (*M6PR* et *IGF2R*). TFEB module également l'expression d'une sous-unité de la GlcNAc-1-phosphotransférase (*GNPTG*) et de l'enzyme faisant apparaître le M6P (*NAGPA*), les enzymes résidant sur l'appareil de Golgi qui génèrent l'étiquette M6P sur la plupart des enzymes lysosomales.⁹

III. LES MALADIES DE SURCHARGE LYSOSOMALE

A. Définition

Les maladies de surcharge lysosomale sont causées par des anomalies de protéines lysosomales entraînant une accumulation de métabolites non dégradés^{8,18}. Environ 70 maladies de surcharge lysosomale sont décrites. Elles sont généralement transmises selon le mode autosomique récessif.

Prises individuellement, ces maladies sont rares, mais elles sont probablement sous diagnostiquées.

Leur prévalence combinée avoisine 1/5000 naissances^{3,9}. Elles ont en commun certains symptômes dits de « surcharge » liés à un défaut de dégradation de macromolécules ou de composés monomériques dans les organelles du système endosome/lysosome.

Les maladies de surcharge lysosomale se présentent cliniquement sous des formes très variées, presque à tout âge et avec des degrés de sévérité très variables. Les formes les plus sévères sont le plus souvent associées à des retards de développement majeurs et une neurodégénérescence progressive.³

Plusieurs classifications ont été utilisées pour distinguer ces différentes maladies. Ces affections peuvent être groupées en fonction de la nature du matériel qui s'accumule : mucopolysaccharidoses, lipidoses, glycoprotéinoses, anomalies de stockage du glycogène, céréoïde-lipofuscinoses.⁸

Ces maladies peuvent aussi être classées selon le mécanisme physiopathologique en cause (déficit isolés, déficits multiples, anomalies des transporteurs, défauts en activateurs, ...).

B. Physiopathologie

L'accumulation progressive de molécules non digérées dans les lysosomes conduit à une hypertrophie et une dysfonction de celui-ci^{6,18} (Figure 12).

Les mécanismes moléculaires pouvant induire une maladie lysosomale de surcharge sont nombreux. Toutes ces pathologies ne sont pas liées au déficit quantitatif ou qualitatif d'une hydrolase acide du lysosome. Des anomalies de la biogenèse du lysosome, des défauts des protéines de la membrane ou des anomalies du trafic vésiculaire ont également été décrites.¹¹

Certaines maladies sont liées à un défaut d'une enzyme associée à la membrane comme dans la mucopolysaccharidose de type IIIC, ou encore à des altérations de la translocation ou de l'homéostasie ionique comme dans la mucopolipidose de type IV.¹⁸

Néanmoins, pour de multiples maladies lysosomales leur mécanisme physiopathologique demeure incomplètement connu. Le déficit enzymatique et l'accumulation de matériel de surcharge ne permettent pas d'expliquer toute la symptomatologie.

Classiquement, lorsqu'une hydrolase lysosomale est défectueuse, une seule maladie lysosomale apparaît ; cependant, dans le cas de l'enzyme β -galactosidase, des mutations du gène *GLB1* peuvent entraîner deux maladies lysosomales distinctes : la gangliosidose GM1 et la maladie de Morquio de type B.¹⁹

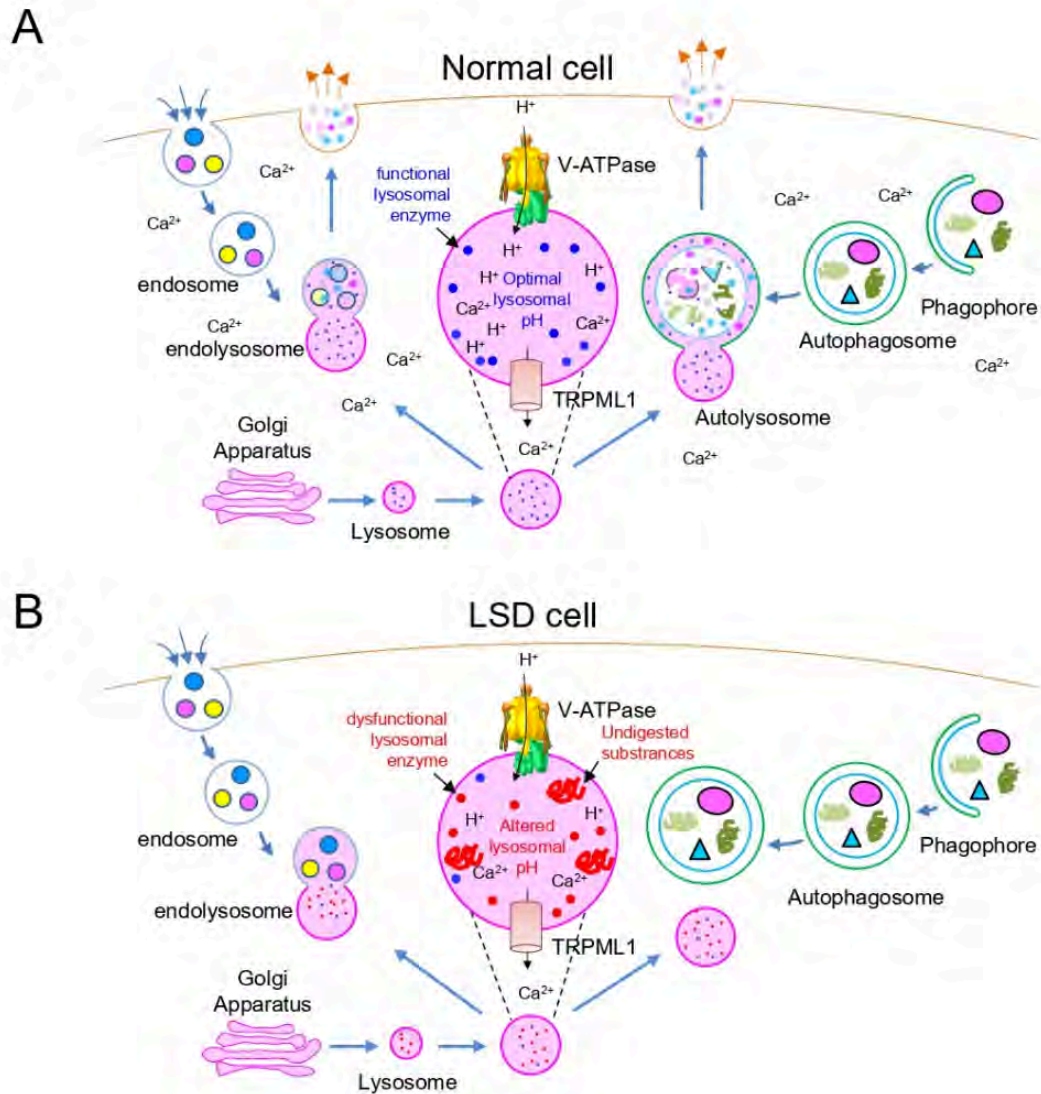


Figure 12 : Représentation schématique de la voie du lysosome et de l'autophagie dans les cellules normales (A) et dans les cellules de maladie de surcharge lysosomale (B). (A) Les lysosomes fusionnent avec les autophagosomes pour former des autolysosomes. Les lysosomes fusionnent également avec les endosomes pour former des structures membranaires hautement dynamiques appelées endolysosomes. Les lysosomes fonctionnels nécessitent un environnement acide dans la lumière lysosomale (pH 4,5 à 5) maintenu par la pompe à protons V-ATPase et un niveau adéquat d'ions calcium maintenu par le transporteur TRPML1 (de la sous-famille des canaux TRP des mucopolipines de mammifères). (B) La maladie de surcharge lysosomale (LSD) est un trouble métabolique généralement provoqué par des mutations dans les gènes codant pour les enzymes lysosomales, conduisant ainsi à l'accumulation de divers substrats. Les lysosomes chargés de substances non digérées conduisent à une fusion lysosomale défectueuse avec les autophagosomes ou les endosomes. De plus, les lysosomes de maladie de surcharge lysosomale présentent des altérations du pH lysosomal et de l'homéostasie du Ca²⁺ lysosomal.¹⁸

C. Généralités cliniques

L'âge de début et le type de symptômes dépendent de la fonction de la protéine en cause, de la nature biochimique et de la quantité du matériel accumulé (selon vraisemblablement l'activité enzymatique résiduelle), et du type cellulaire où prédomine la surcharge.

Certaines maladies lysosomales peuvent se manifester dès la période anténatale (hydramnios, anomalies osseuses, anasarque...), mais la plupart sont asymptomatiques à la naissance et les signes cliniques apparaissent progressivement⁷. Certaines pathologies peuvent parfois apparaître tardivement à l'âge adulte avec un phénotype atténué, voire n'être diagnostiquées que fortuitement. Le début des signes se fait généralement dans l'enfance, après une période sans anomalie, puis la maladie s'aggrave progressivement avec des symptômes dégénératifs en l'absence de traitement.

Les symptômes les plus fréquemment retrouvés (et les plus sévères) pour de nombreuses pathologies lysosomales, du moins dans leurs formes infantiles, sont neurologiques : troubles du comportement, convulsions, perte des acquisitions psychomotrices après une phase de développement normale, troubles neurosensoriels, troubles neuropsychiatriques, difficultés d'apprentissage scolaires... Une étude menée au Royaume-Uni a révélé que les maladies lysosomales de surcharge représentaient la grande majorité des diagnostics dans une cohorte pédiatrique de maladies neurodégénératives²⁰. Les processus neurodégénératifs peuvent toucher plusieurs régions cérébrales : thalamus, cortex, hippocampe et cervelet.

Plusieurs hypothèses physiopathologiques ont été émises pour expliquer l'atteinte neurologique : certains composés accumulés (par exemple, la psychosine) exercent un effet délétère sur certaines populations cellulaires du système nerveux. De plus, l'activation de l'immunité innée est décrite dans le cerveau. Cette inflammation induit des lésions du système nerveux central. Une astrogliose est également retrouvée induisant une toxicité neuronale.

D. Traitements disponibles

Il n'existe pas véritablement de traitement curatif des maladies lysosomales.¹⁸ Les traitements disponibles ont pour but de ralentir ou d'arrêter la progression de la maladie. De nombreux traitements ont été développés ces années ayant pour cible les différentes organelles impliquées dans la physiopathologie de ces maladies.

Plusieurs stratégies thérapeutiques sont possibles :

- Atténuer/corriger le déficit enzymatique par l'enzymothérapie substitutive
- L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (thérapie cellulaire)
- La thérapie par chaperon pharmacologique
- La thérapie génique
- Diminuer la quantité de substrat accumulé en favorisant son élimination et/ou en réduisant sa production.

Les différents traitements disponibles seront détaillés ci-dessous. En l'absence de traitement curatif disponible, une part importante de la prise en charge thérapeutique est le traitement symptomatique des différentes complications liées à la maladie.

1. Enzymothérapie

L'enzymothérapie substitutive (en anglais, ERT pour *Enzyme Replacement Therapy*) consiste à remplacer l'enzyme déficiente par une enzyme exogène, recombinante, le plus souvent administrée par voie intraveineuse à intervalles réguliers (hebdomadaire ou toutes les deux semaines).

Ce traitement repose sur la possibilité des enzymes lysosomales d'être endocytées par reconnaissance de leurs résidus M6P grâce aux MPR situés au niveau de la membrane plasmique.

L'enzyme de synthèse est adressée au lysosome où elle exerce son effet catabolique.

La première enzymothérapie substitutive disponible a été développée pour la maladie de Gaucher de type 1. La glucocérébrosidase a été purifiée à partir de placenta humain. Elle était apportée au patient par des perfusions intraveineuses toutes les 2 semaines. Cette molécule a permis de modifier le pronostic des patients.

Après l'instauration de cette première enzymothérapie substitutive, d'autres traitements ont été développés pour la maladie de Fabry, pour la maladie de Pompe et pour plusieurs

mucopolysaccharidoses. Elles apportent des bénéfices certains aux patients, mais ne permettent pas d'améliorer tous les symptômes, car les molécules diffusent mal dans certains organes notamment le système nerveux et l'os. Le traitement ne passe pas la barrière hémato-encéphalique.

Les principaux effets secondaires de ces traitements sont liés à l'immunogénicité avec le développement d'anticorps dirigés contre l'enzyme de synthèse. D'autre part, ces traitements sont coûteux et nécessitent des perfusions par voie intraveineuse à vie.

D'autres évolutions pour améliorer l'efficacité de l'enzymothérapie substitutive ont vu le jour récemment. En effet, des modifications chimiques ou des administrations intrathécale ou intracérébrale ont été proposées pour augmenter l'accès à des organes cibles (système nerveux central, os...).^{21,22}

2. Thérapie par réduction de substrat

La thérapie par réduction de substrat (en anglais, SRT pour *Substrate Reduction Therapy*) a pour objectif de diminuer la production du substrat de l'enzyme défectueuse et par conséquent son stockage. Ce traitement peut reposer sur l'inhibition des enzymes qui synthétisent le substrat ou un précurseur du substrat.

La première molécule ayant été commercialisée est le Miglustat (N-Butyl-Désoxynojirimycine) qui est un inhibiteur de la glucosylcéramide synthase (l'enzyme catalysant la première étape engagée dans la biosynthèse de la plupart des glycosphingolipides, y compris les gangliosides)²². Il réduit partiellement la biosynthèse des glycosphingolipides. Le Miglustat est actuellement utilisé dans les maladies de Gaucher et de Niemann-Pick type C afin de réduire la quantité de substrat non dégradé par l'enzyme. Le Miglustat peut traverser la barrière hémato-encéphalique. Cette molécule pourrait également avoir des bénéfices dans d'autres gangliosidoses, mais sans indication reconnue à ce jour devant l'absence de preuves scientifiques. Ce composé inhibe les disaccharidases, ce qui peut induire lors des premières semaines de traitement des effets secondaires digestifs.²¹⁻²³

3. Chaperons pharmacologiques

La structure tridimensionnelle des protéines est essentielle au bon fonctionnement de celles-ci. Le repliement des protéines s'effectue au niveau du réticulum endoplasmique lors de leur biosynthèse.

Certaines mutations peuvent conduire à la synthèse de molécules mal repliées. En cas de mauvais repliement, les protéines sont prématurément dégradées par le protéasome grâce à un complexe appelé ERAD (*Endoplasmic Reticulum-Associated protein Degradation*).

Des molécules endogènes, dites chaperons ont la propriété d'aider au repliement correct des protéines. C'est le cas de certaines protéines de choc thermique ou encore de la calnexine. Des petites molécules synthétiques, dites chaperons pharmacologiques, ont été conçues pour restaurer une conformation adéquate aux protéines mutantes (à condition que la mutation n'affecte pas le site actif de l'enzyme). Il peut s'agir d'inhibiteurs de l'enzyme cible qui, en se liant avec une très forte affinité à la protéine mal repliée, permettent d'éviter sa dégradation prématurée par le système ERAD et d'aboutir à une conformation tridimensionnelle compatible avec son adressage au lysosome.

L'excès de substrat au sein du lysosome et le pH acide de l'endosome tardif contribuent à libérer la molécule chaperonne du site actif. L'enzyme parvenue au lysosome est alors fonctionnelle pour dégrader le substrat accumulé.

Des études ont démontré qu'il n'est pas nécessaire de restaurer un taux physiologique intracellulaire d'enzyme active. Une activité enzymatique résiduelle de 10 % de l'activité physiologique pourrait s'avérer suffisante pour limiter la surcharge.

L'intérêt de ces chaperons pharmacologiques réside dans leur facilité de fabrication (donc leur coût) et le mode d'administration per os évitant, ainsi, la contrainte des perfusions de l'enzymothérapie substitutive.

De plus, ces molécules présentent l'avantage d'avoir une meilleure biodistribution vers les tissus difficilement accessibles à l'enzymothérapie. Certaines peuvent traverser la barrière hématoencéphalique.

Ce type de molécules n'est efficace que si les variants pathogènes induisent la production d'une protéine mutante présentant un défaut de repliement, mais pas une altération propre de la fonction catalytique. Seuls les patients présentant des variants dits sensibles pourraient être concernés par ces traitements.²¹⁻²³

4. Transplantation de CSH

La transplantation de cellules souches hématopoïétiques (moelle osseuse ou sang de cordon) a été développée pour certaines maladies lysosomales. Les cellules injectées provenant d'un donneur sain permettent la production de l'enzyme déficiente dans la moelle, mais également dans le système nerveux via les cellules microgliales.

Elle est indiquée dans la mucopolysaccharidose de type I chez les patients diagnostiqués précocement avant l'âge de 2,5 ans et ayant un quotient de développement >70.

Elle peut également être bénéfique dans certaines sphingolipidoses telles que la maladie de Krabbe en cas de traitement précoce.

En dehors de ces indications, les bénéfices sont très inconstants et la greffe n'est pas recommandée. Les indications peuvent être discutées au cas par cas.^{21,22}

5. Thérapie génique

La thérapie génique consiste à apporter, par l'intermédiaire d'un vecteur généralement viral, une séquence génique pour corriger un défaut génétique. Ceci permet la production de la protéine codée par le transgène après son internalisation dans les cellules.²⁴

Dans le cadre des maladies lysosomales, la thérapie génique va permettre la production de l'enzyme déficiente. Elle permet également d'obtenir une concentration en enzyme plus régulière par rapport à l'enzymothérapie. L'enzyme va pouvoir également être captée via l'intermédiaire des M6PR par les cellules qui n'ont pas intégré le transgène.

La thérapie génique représente un intérêt pour les maladies lysosomales caractérisées par une symptomatologie neurologique. En effet, l'introduction du transgène dans le SNC permet une production locale d'enzyme offrant une alternative à l'enzymothérapie dont la distribution dans le SNC est très médiocre.

Différentes techniques d'injection sont possibles : soit une injection intracérébrale du vecteur soit une injection intrathécale. De nombreux essais ont été menés sur des modèles animaux et ont permis de prouver l'intérêt potentiel de la thérapie génique dans les maladies lysosomales.

Cependant, l'immunogénicité peut limiter l'effet thérapeutique car les réponses immunitaires ciblent les protéines de capside, les cellules transduites et les produits de thérapie génique, entraînant finalement une perte d'activité enzymatique.²⁴

IV. LA GM1 GANGLIOSIDOSE

A. Généralités

Les gangliosidoses GM1 sont des maladies de surcharge lysosomale caractérisées par l'accumulation principale de gangliosides GM1, due à une déficience en enzyme catabolique nécessaire à leur dégradation : la β -galactosidase.²⁵

Ce sont des affections neurodégénératives rares, de transmission autosomique récessive, dont l'incidence a été estimée à 1 sur 100 000 à 200 000 naissances vivantes.^{21,22,26-30}

Cette GM1 gangliosidose comporte un continuum de présentations cliniques allant d'une forme infantile sévère à une forme adulte chronique plus modérée³¹. En principe, la gravité de la maladie est inversement corrélée au niveau d'activité enzymatique résiduelle de la β -galactosidase.³²

C'est une maladie dévastatrice et aujourd'hui sans traitement curatif spécifique ; cependant, grâce à une prise en charge médicale adaptée, l'espérance de vie et la qualité de vie des patients ont pu être améliorées.

B. Les gangliosides

1. Généralités

Les gangliosides ont été découverts par Ernst Klenk dans les années 1930 lorsqu'il a analysé des tissus cérébraux post-mortem de patients atteints de la maladie de Tay- Sachs, une forme infantile mortelle d'idiotie amaurotique, maladie héréditaire caractérisée par des cellules chargées de lipides (ici, GM2 ganglioside) dans le système nerveux et les organes viscéraux, un retard mental et des troubles de la vision.³³

Les gangliosides sont des lipides qui font partie des glycosphingolipides, lipides complexes dérivés de la sphingosine sur laquelle est ajouté un acide gras. Ainsi, ils sont constitués d'un céramide, lié par une liaison osidique un ou plusieurs oses chargés. Les gangliosides contiennent deux résidus osidique ou plus dont au moins un est estérifié par un acide sialique.²⁵

Il existe plus de 200 gangliosides identifiés chez les vertébrés, chacun étant classé en fonction du nombre et de la position des résidus d'acide sialique³⁴. Le ganglioside GM1 (en réalité GM1a) contient un seul acide sialique (ou acide N-acétylneuraminique ou NANA) et est donc classé comme un monosialoganglioside, d'où le M de GM1 (Figure 13)^{22,25}.

2. Rôle du ganglioside GM1

Les gangliosides sont synthétisés par toutes les cellules, mais surtout dans le système nerveux, les concentrations des différentes espèces de ces lipides variant selon le type cellulaire. Ils participent à la construction des membranes plasmiques et sont particulièrement abondants dans le cerveau, où leur présence dans la substance grise est environ 5 fois plus élevée que dans la substance blanche.²⁵

Dans le cerveau humain, les gangliosides majoritaires sont les GM1a, GD1a, GD1b et GT1b. Ils sont les principaux glycolipides des membranes plasmiques neuronales où leur fraction glucidique participe à des fonctions telles que les interactions cellule-cellule et la transduction du signal³⁴, ils représentent 10% du contenu lipidique cérébral et sont nécessaires pour le développement du système nerveux, la neurogenèse, la synaptogenèse et la plasticité neuronale.^{22,25}

Il a été démontré que l'enrichissement de la membrane plasmique en GM1 résultant de l'activité de la neuraminidase 3 (NEU3) – une sialidase spécifique des gangliosides qui convertit GD1a et GT1b en GM1 – déclenche l'afflux de Ca²⁺ dans les cellules neuronales via des canaux calciques de type T et induit la neuritogenèse.³⁴

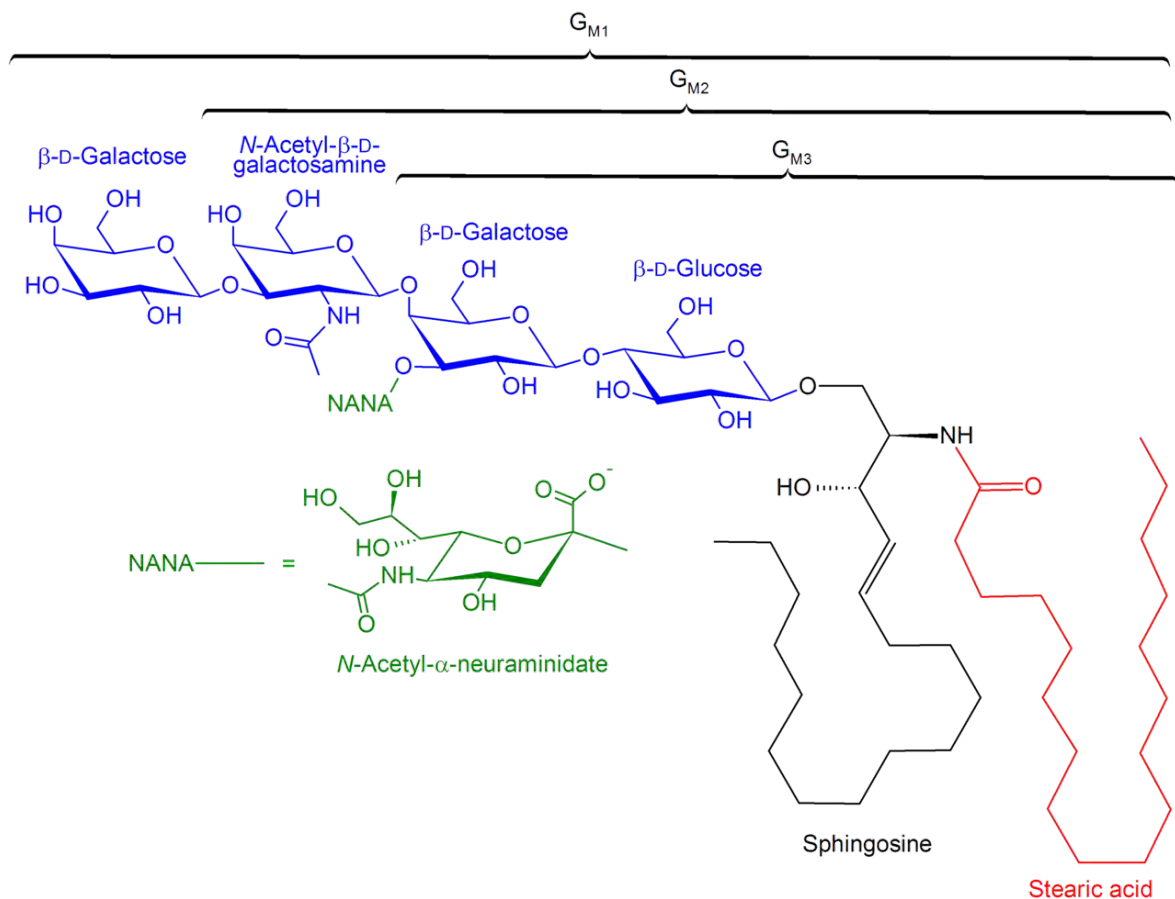


Figure 13 : Représentation de la structure des gangliosides (GM1, GM2 et GM3). En rouge = acide gras, en noir = sphingosine, en bleu = résidus osidiques neutres, en vert = acide sialique. NANA = acide N-acétylneuraminique (<https://en.wikipedia.org/wiki/Ganglioside>).

3. Biosynthèse

La première étape est la synthèse du céramide dans le RE, qui se poursuit dans l'appareil de Golgi où il subira l'action de transférases pour devenir un glycosphingolipide (GSL). La première modification que subit le céramide est le transfert d'un β -D-glucose (Glc) par la céramide- β -glucosyl-transférase pour devenir un β -glucosylcéramide (GlcCer), puis d'un β -galactose (Gal) par la glucosylcéramide- β 1,4-galactosyl-transférase, pour devenir un lactosylcéramide (LacCer), le précurseur des gangliosides et des GSL de la série O.^{22,25,33}

Le LacCer est sialylé pour former de petits gangliosides précurseurs (GM3, GD3 et GT3) par l'action d'une synthase. Ils sont ensuite convertis par des glycosyltransférases liées à la membrane golgienne en gangliosides complexes, qui atteignent la surface cellulaire par transport vésiculaire de la voie de sécrétion.³³

A noter qu'une fois une série commencée, il n'est pas possible de revenir en arrière. L'élongation des gangliosides des différentes séries se poursuit par les mêmes enzymes. Ainsi, la formation de GA2, GM2, GD2 et GT2 se fait par la même Gal-transférase (ou GM2/GD2 synthase), puis l'action d'une autre Gal-transférase (GM1a/GD1b synthase) permet la formation des gangliosides GA1, GM1a, GD1b, GT1c. Ces derniers peuvent ainsi subir successivement l'action d'une Gal-transférase, d'une sialyl-transférase et d'une GalNAc-transférase pour compléter la famille des gangliosides (Figure 14).

Chez l'Homme, les acides sialiques se présentent exclusivement sous la forme d'acide N-acétylneuraminique (Neu5Ac ou NANA) et de ses dérivés O-acétylés. Ils peuvent être en outre modifiés par O-acétylation ou élimination du groupe N-acyle, pour générer un groupe amine libre.

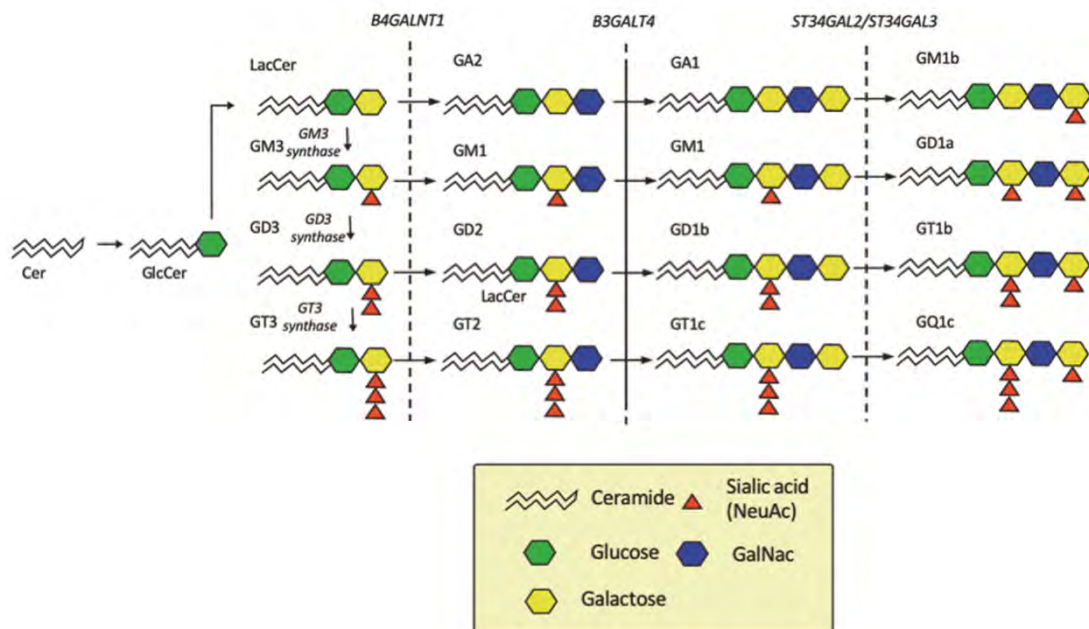


Figure 14 : Représentation schématique de la voie de biosynthèse et des structures des gangliosides : Les gangliosides sont des glycosphingolipides sialylés. Leur synthèse consiste en l'ajout séquentiel de sucres et/ou d'acides sialiques (acide neuraminique ; NeuAc) par deux groupes principaux d'enzymes, à savoir les sialyltransférases (GM3/GD3/GT3 synthases et ST3GAL2/ST3GAL3) et les glycosyltransférases (B4GALNT1 et B3GALT4). Les lettres M (1), D (2), T (3) et Q (4) indiquent respectivement le nombre de résidus d'acide sialique. Les chiffres, en revanche, indiquent indirectement le nombre de résidus de sucre soustraits de 5 : par exemple, GM1 contient 5-1 = 4 résidus de sucre et GD3 contient 5-3 = 2 résidus de sucre. Abréviations : bêta-1,4-N-acétylgalactosaminyl transférase 1 (B4GALNT1), bêta-1,3-galactosyltransférase 4 (B3GALT4), ST3 bêta-galactoside alpha-2,3-sialyltransférase 2 (ST3GAL2), ST3 bêta-galactoside alpha-2,3-sialyltransférase 3 (ST3GAL3).⁶⁶

Les mutations avec perte de fonction dans les gènes codant pour les enzymes de la biosynthèse des gangliosides entraînent chez l'Homme de graves troubles neurodéveloppementaux et neurodégénératifs.³⁴

4. Dégradation

La dégradation constitutive des gangliosides a lieu principalement dans les endosomes et les lysosomes.²⁵ Les lysosomes sont des « estomacs » intracellulaires. Ils dégradent les macromolécules et libèrent leurs composants sous forme de nutriments dans le cytosol pour les voies de recyclage et le métabolisme énergétique. Les macromolécules et les composants membranaires atteignent le compartiment lysosomal pour être digérés par autophagie, phagocytose, ou d'autres voies d'endocytose.

Alors que les hydrolases lysosomales hydrosolubles peuvent attaquer directement les macromolécules hydrosolubles, la digestion des gangliosides, des GSL et des membranes nécessite une coopération plus complexe entre les hydrolases solubles, les protéines dites activatrices et de transfert des lipides et les vésicules intra-endolysosomales lumineales.

Alors que la membrane périphérique lysosomale semble être assez résistante à la dégradation lysosomale, les vésicules de membranes intra-endosomales (MI) sont digérées à l'aide d'enzymes hydrolytiques et de certaines protéines activatrices, dont les saposines (SAP) et l'activateur du GM2²⁵. Les saposines sont de petites protéines lysosomales hydrosolubles de liaison et de transfert des lipides (Figure 15).

Une fois décomposés, les monosaccharides individuels sont ensuite généralement exportés du lysosome vers le cytoplasme librement ou via l'action de différents transporteurs (par exemple le transporteur de l'acide sialique), afin de pouvoir être réutilisés.³³

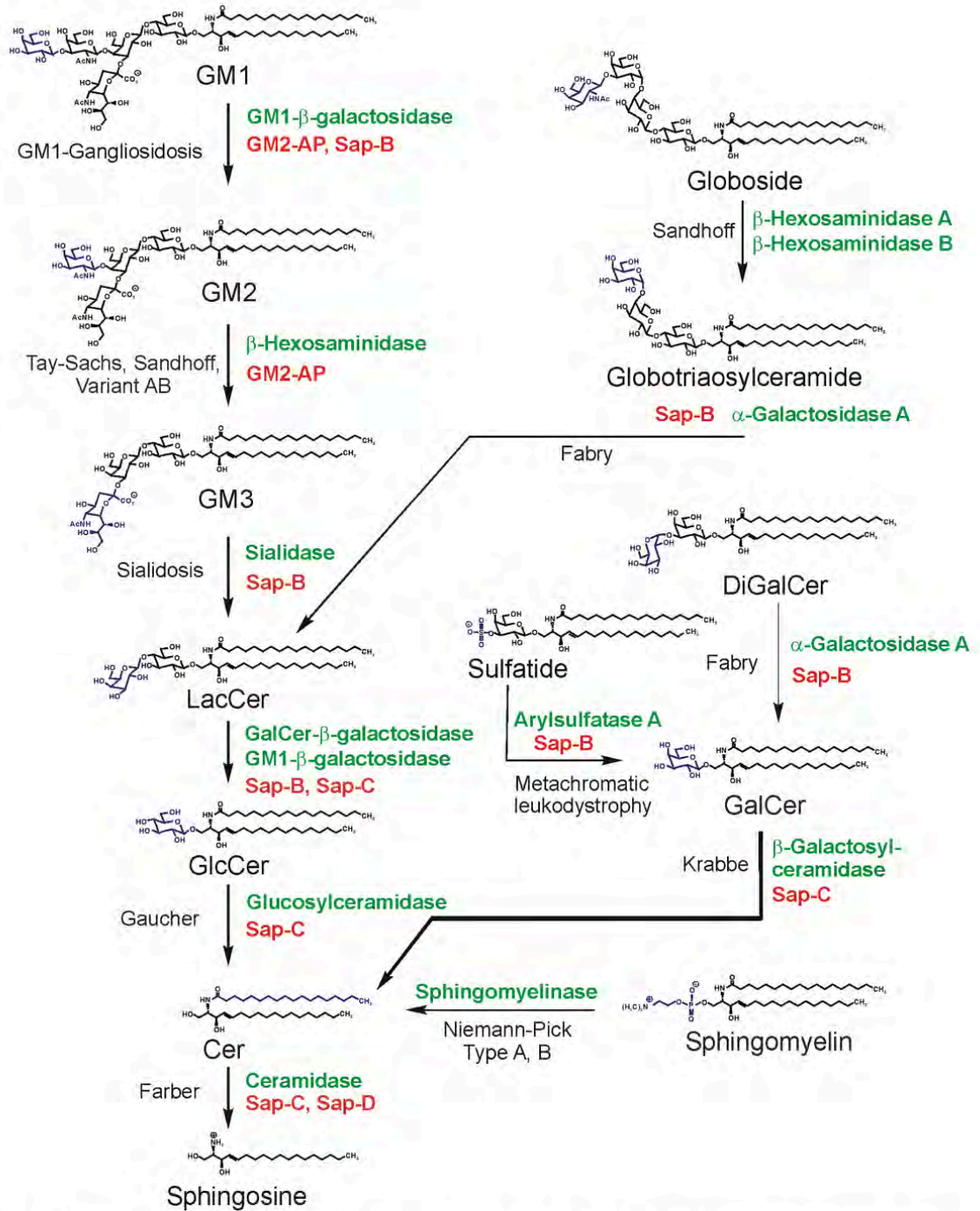


Figure 15 : Voie de dégradation des sphingolipides lysosomaux : Les éponymes des maladies métaboliques connues et le nom des protéines activatrices des sphingolipides (SAP, en rouge) nécessaires à leur dégradation in vivo sont indiqués. Les hydrolases sont indiquées en vert. L'hétérogénéité moléculaire de la partie lipidique des sphingolipides n'est pas indiquée (d'après Sandhoff et Kolter, 1995).³³

C. Physiopathologie

1. Déficit en β -galactosidase

La gangliosidose GM1 est causée par des mutations au niveau du gène *GLB1* (chromosome 3p21.33) entraînant une diminution de l'activité de la β -galactosidase (β -GAL), première enzyme à entrer en action dans la voie catabolique des gangliosides à l'intérieur des lysosomes, ce qui conduit à une accumulation de ganglioside GM1 et d'asialo-GM1 (glycolipide GA1) dans le tissu neuronal (Figures 15 et 16).

Lorsque l'activité enzymatique est diminuée, les métabolites sphingolipidiques s'accumulent dans le lysosome et interfèrent ainsi avec le bon fonctionnement de l'organite.²²

Dans les formes infantiles, les plus sévères, l'activité de la β -Gal est absente ou indétectable (<1%)³⁵, alors que dans les formes juvéniles et adulte, il existe une activité résiduelle de la β -Gal (environ 9%), ce qui indique que l'activité résiduelle de l'enzyme est inversement corrélée à la sévérité clinique de la maladie^{36,37}.

Cependant, la façon dont l'accumulation de gangliosides GM1 et d'autres GSL conduit à la neurodégénérescence n'est pas entièrement comprise.²²

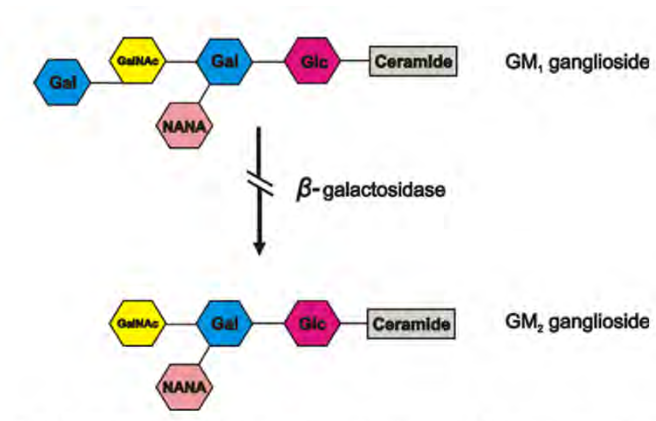


Figure 16 : Défaut biochimique dans la gangliosidose GM1 : L'enzyme β -galactosidase hydrolyse les résidus terminaux beta-galactosyle du ganglioside GM1. Le manque de β -galactosidase conduit à une accumulation massive de ganglioside GM1. Abréviations : Glc = glucose ; Gal = galactose; GalNAc = N-acétylgalactosamine; NANA = acide N-acétylneuraminique.²⁶

L'examen histopathologique du cerveau et des organes viscéraux des patients atteints de GM1 gangliosidose révèle des neurones hypertrophiés caractérisés par des inclusions cytoplasmiques, une coloration à l'acide periodique de Schiff (PAS) et une vacuolisation hépatocellulaire. Dans les neurones, la substance de Nissl est condensée dans la région périnucléaire et l'analyse ultra-structurale révèle une compression du RE.

La pathologie est marquée dans les ganglions de la base. L'atrophie du noyau caudé et celle du putamen, avec des neurones gonflés visibles à l'examen microscopique, sont compatibles avec la perte neuronale et la gliose (Figure 17).

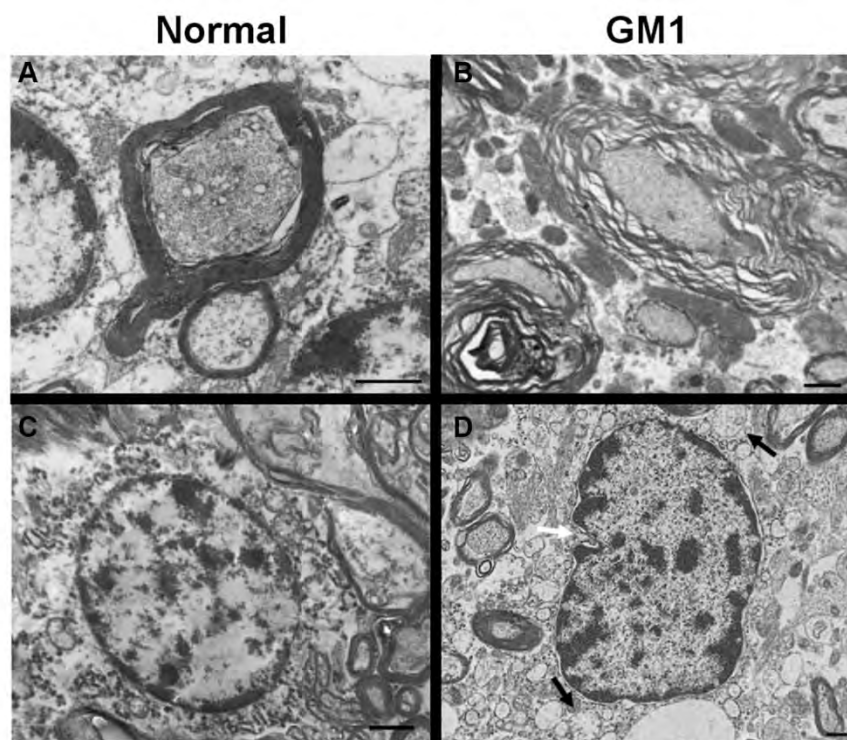


Figure 17 : Images de microscopie électronique à transmission (TEM) de système nerveux central dans un modèle félin de GM1 gangliosidose : à gauche chez un chat témoin, à droite chez un chat atteint. (A) Axone normal en coupe entouré d'une épaisse gaine de myéline. (B) Plusieurs axones en coupe transversale de substance blanche GM1, entourés de couches de myéline disjointes et démêlées. (C) Oligodendrocyte normal à enveloppe nucléaire ronde et réseau cytotavitaire proéminent. (D) Oligodendrocyte GM1 avec plusieurs mitochondries gonflées (flèches noires) et enveloppe nucléaire de forme irrégulière (flèche blanche). Les échelles (barres noires) sont de 1µm. Ces images dans les panneaux A, B et D prédisent l'amélioration de la neurodégénérescence cérébrale après thérapie génique par AAV.²²

1.1. La β -galactosidase

La β -galactosidase (β -GAL) est une hydrolase lysosomale qui libère un résidu de β -galactose présent dans divers substrats.²¹

Elle fait partie de la famille 35 des glycoside hydrolases (GH35) et son substrat de prédilection est le ganglioside GM1, mais elle a d'autres substrats tels que le kératane sulfate³⁷, les lactosylcéramides, le lactose, ainsi que des oligosaccharides issus de diverses glycoprotéines.

Elle intervient dans le métabolisme des glycosphingolipides. Elle est la première enzyme à entrer en action dans la voie catabolique des gangliosides à l'intérieur des lysosomes.

Le déficit de son activité entraîne l'accumulation de gangliosides GM1 et de ses asialodérivés (GA1) dans les tissus de façon diffuse, principalement dans les lysosomes du tissu neuronal.²¹

Cette β -galactosidase a été associée au phénomène de sénescence cellulaire, pour lequel elle est souvent utilisée comme marqueur biologique³⁸.

L'enzyme humaine est codée par le gène *GLB1* (Cf chapitre F.3.3.1) dont le transcrit code pour 677 acides aminés.

Elle est synthétisée sous la forme d'un précurseur de 88 kDa et transformée en enzyme lysosomale mature de 64 kDa.²⁶

La protéine serait formée de quatre chaînes et aurait une masse moléculaire de 464 kDa.

La β -galactosidase humaine se structure autour de trois domaines (Figure 18):

- Le premier domaine comprend un repli en tonneau (TIM) de 337 résidus et contient le site actif. Les résidus appartenant au site actif (Y83, I126, A128, E129, N187, E188, E268, Y306 et Y333) et les résidus catalytiques (E188 : le donneur de protons, et E268 : le nucléophile) ont été déduits de la structure de la β -galactosidase de *Penicillium*. Ce premier domaine est appelé domaine catalytique.
- Le deuxième domaine (124 résidus) et le troisième domaine (154 résidus) comprennent des replis de type domaine de liaison au galactose.³⁹

Le domaine du tonneau TIM et le domaine 1 sont connectés par une région en boucle (résidus 360 à 396) appelée boucle TIM- β 1³⁷.

L'enzyme se présente soit seule sous forme de monomère ou de dimères (Figure 19), soit dans un complexe avec au moins deux protéines supplémentaires.⁴⁰

Elle fait entre autres partie d'un complexe multienzymatique lysosomal à 3 enzymes qui comprend la protéine carboxypeptidase/cathepsine A (PPCA), dite protéine protectrice, et la sialidase neuraminidase-1 lysosomale (NEU1).^{23,25,26,37,41}

Un autre complexe enzymatique apparenté lié au récepteur d'élastine de surface cellulaire a été identifié au niveau de la membrane plasmique d'un certain nombre de types de cellules humaines. Ce complexe est composé, outre PPCA et NEU1, de la protéine de liaison à l'élastine (EBP).⁴¹

L'EBP fonctionne comme un chaperon pour la tropoélastine et facilite le dépôt extracellulaire de fibres élastiques sur l'échafaudage microfibrillaire²³ ; elle semble être directement impliquée dans la transmission du signal intracellulaire après liaison à ses ligands matriciels.⁴²

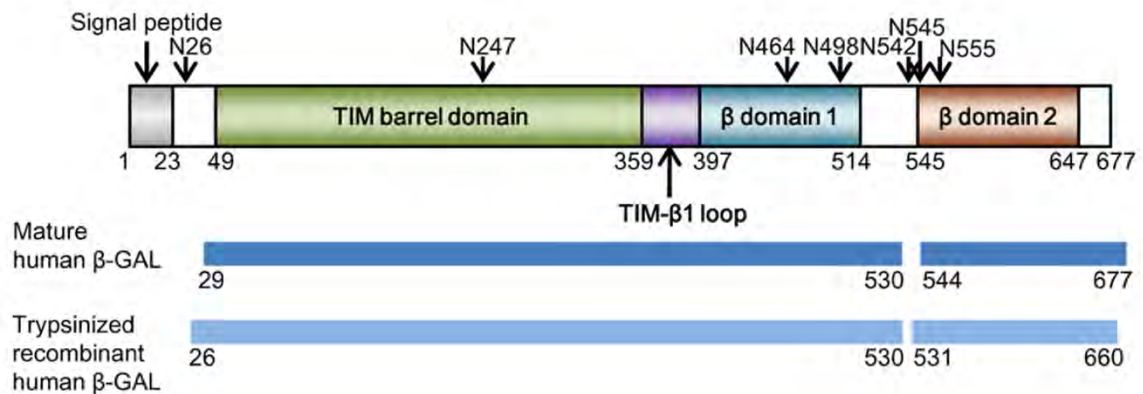


Figure 18 : Organisation en domaines de la β -Galactosidase humaine : domaine du tonneau TIM (résidus 1 à 359) suivi du domaine de la boucle TIM- β 1 (résidus 360 à 396), du domaine 1 (résidus 397 à 514) et du domaine 2 (résidus 545 à 647).³⁷

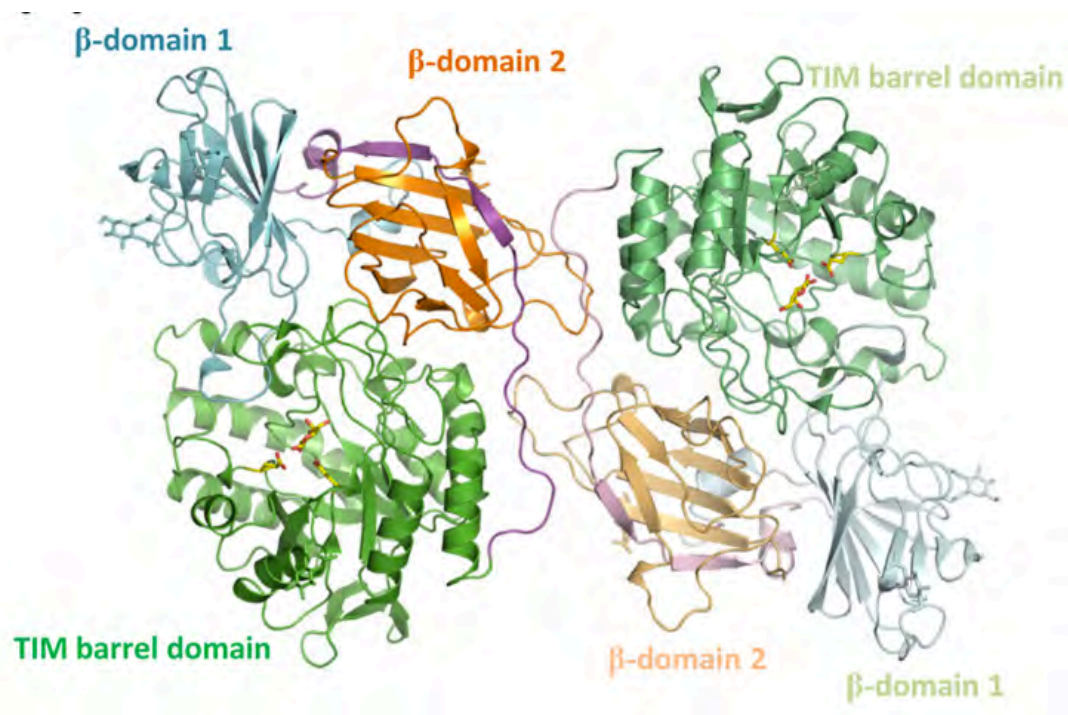


Figure 19 : Structure dimérique de la β -Galactosidase humaine : Vert, domaine en tonneau TIM ; violet, boucle TIM- β 1 ; bleu, domaine 1 ; orange, domaine 2. Le galactose lié et les deux résidus catalytiques, Glu-188 et Glu-268, sont représentés sous forme de bâtonnets. Les chaînes latérales des résidus Asn avec les résidus N-glycane liés sont également représentées sous forme de bâton.³⁷

2. Hypothèses physiopathologiques

2.1. Voies cataboliques du GM1

Une étude récente a été menée par Allende et al.³⁶ sur des souris visant à démontrer ou non l'existence d'une voie alterne de la dégradation du ganglioside GM1.

En effet, les modèles de souris de gangliosidose GM1, totalement dépourvus d'expression de la β -galactosidase, présentent une forme de la maladie moins grave que celle attendue d'un déficit comparable chez l'homme, suggérant une différence potentielle entre certaines espèces de mammifères dans la voie de dégradation des gangliosides GM1. Cette différence pourrait impliquer la sialidase NEU3, qui agirait sur le ganglioside GM1 pour produire le glycolipide GA1 (Figure 20).

Pour tester cette hypothèse, des souris doublement invalidées (KO) pour les gènes *Glb1/Neu3* ont été générées afin de créer un déficit combiné en *Glb1* et en *Neu3* ; ces souris ont été comparées à des souris mutées pour un seul gène, *Glb1* KO ou *Neu3* KO. Les souris mutantes *Glb1* portaient une délétion de 17 pb dans l'exon 2 et une délétion de 28 pb dans l'exon 6. La délétion dans l'exon 2 entraîne un décalage du cadre de lecture avec codon stop prématuré prédit dans l'exon 3. Les souris mutantes *Neu3* portaient une délétion d'environ 10 kpb comprenant l'exon 2 et une partie de l'exon 3.

Les souris doublement KO avaient une durée de vie significativement plus courte, une neurodégénérescence accrue et précoce, et une ataxie plus grave que les souris *Glb1* KO, ressemblant davantage à la forme infantile de la gangliosidose GM1 humaine.

Les souris double KO *Glb1/Neu3* présentaient un rapport ganglioside GM1/glycolipide GA1 accru par rapport aux souris *Glb1* KO, indiquant que la conversion du ganglioside GM1 en glycolipide GA1 est médiée par la *Neu3* chez la souris *Glb1* KO. L'absence de la sialidase *NEU3* empêche l'élimination de l'acide sialique du ganglioside GM1 pour former le glycolipide GA1. Ainsi, le déficit combiné en β -galactosidase et en sialidase *Neu3* entraîne une forte augmentation du stockage de GM1 aux dépens de GA1 (Figure 21).

Les souris *Neu3* KO avaient quant à elles un phénotype sauvage.

La *Neu3* de souris a converti plus efficacement le ganglioside GM1 en glycolipide GA1 que la *NEU3* humaine. Cette différence serait due à une activité de sialidase *Neu3* plus élevée chez la souris que chez l'homme.

Ces résultats indiquent que l'élimination du résidu unique d'acide sialique du ganglioside GM1, médiée par *NEU3*, offre (à la souris) une protection substantielle contre la neurodégénérescence dans le contexte d'un déficit en β -galactosidase lysosomale, ce qui suggère que, à quantité équivalente, le stockage de ganglioside GM1 serait plus neurotoxique que celui du glycolipide GA1.

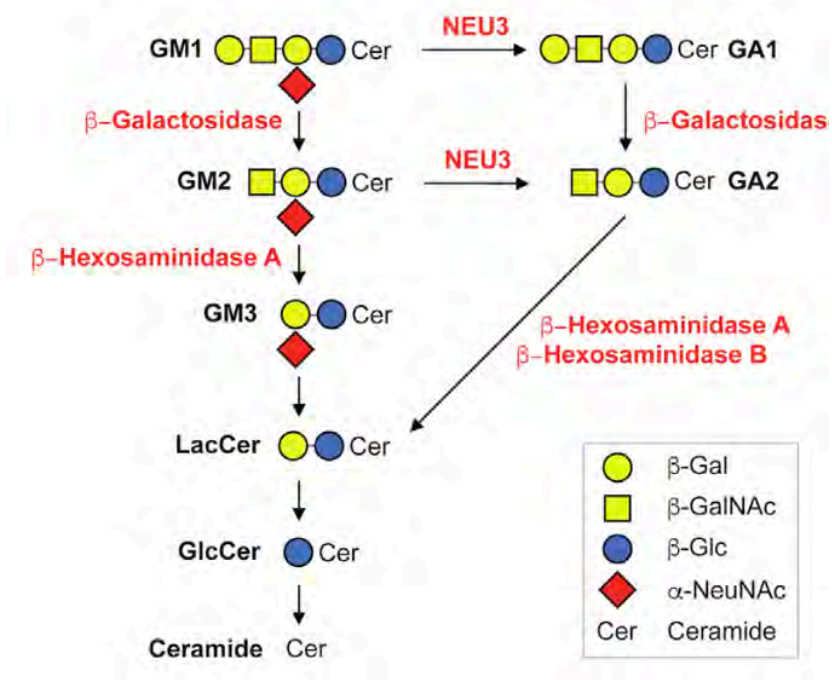


Figure 20 : Schéma illustrant les voies de dégradation du ganglioside GM1 chez la souris.³⁶ La sialidase Neu3 permet de retirer un résidu d'acide sialique (losange rouge), et génère ainsi du GA1 à partir du GM1.

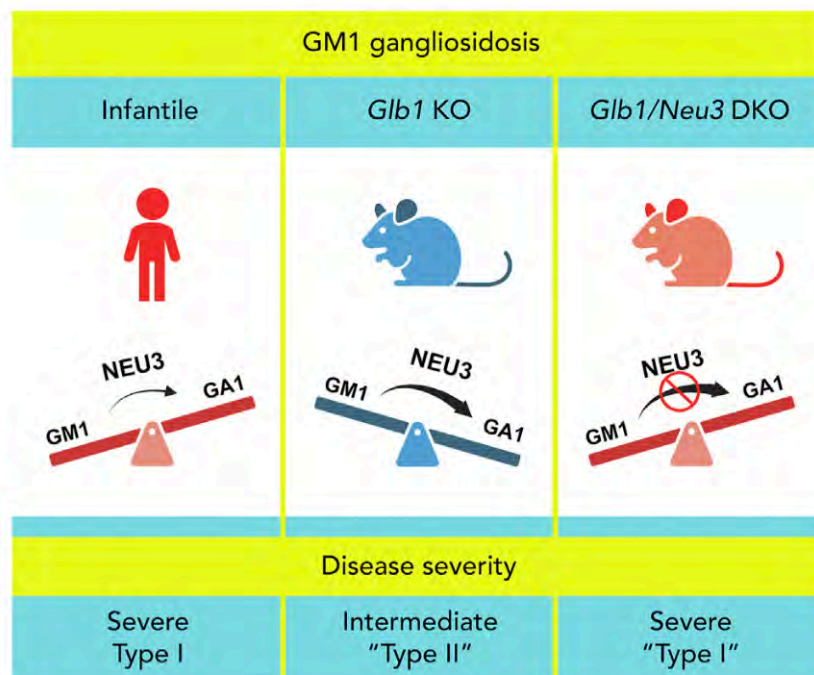


Figure 21 : Comparaison des phénotypes GM1 Gangliosidose chez l'homme et chez la souris.³⁶

2.2. Effets du GM1 sur l'homéostasie cellulaire

Une étude s'est concentrée sur la place du GM1 au niveau des membranes du RE associées aux mitochondries (MAM), qui sont des sites de juxtaposition entre le RE et les mitochondries et qui fonctionnent comme des centres biologiques pour l'échange de molécules et d'ions et le maintien de l'état fonctionnel des organites. Cette étude démontre que l'incapacité à digérer le ganglioside GM1 dans les lysosomes altère la conformation lipidique et les propriétés fonctionnelles des MAM et conduit à la mort des cellules neuronales et à la neurodégénérescence³⁶.

Les MAM servent de centres fonctionnels pour de nombreux processus physiologiques, influencés par la distribution spécifique et la concentration locale des composants lipidiques (cholestérol et gangliosides). Le contenu lipidique régule le recrutement et le regroupement de protéines spécifiques au niveau des MAM et influence leurs propriétés et fonctions. Une altération du renouvellement lysosomal et de la dégradation de GM1 dans la gangliosidose GM1 modifie la composition moléculaire des MAM et de la signalisation calcique, entraînant une apoptose neuronale. Dans des conditions de stress provoquant une augmentation de la concentration intracellulaire en ganglioside, l'accumulation de GM1 favoriserait la formation de davantage de sites de contact entre le RE et les mitochondries, altérant les activités bioénergétiques des mitochondries et activant la voie intrinsèque mitochondriale de l'apoptose.

Le même groupe d'auteurs vient de montrer que l'accumulation de GM1 au niveau des sites de contact entre RE et membrane plasmique des neurones altère la signalisation calcique médiée par les récepteurs au N-méthyl D-aspartate (NMDA) et augmente le nombre d'épines dendritiques, aggravant les phénomènes de neurodégénérescence⁴³.

D. Présentation clinique

La caractéristique principale de la gangliosidose GM1 est la neurodégénérescence progressive. La maladie comprend des phénotypes allant de légers à graves en fonction de l'activité enzymatique résiduelle déterminée par les mutations spécifiques de *GLB1*.²⁶

Les manifestations cliniques de la GM1 gangliosidose résultent du stockage massif de GM1 dans le SNC, conduisant à l'apoptose neuronale et une démyélinisation ; peuvent également être observées une astroglie ou une microglie.²⁶

Il existe 3 types de GM1 gangliosidose. La gangliosidose à GM1 de type I a été la première décrite car cette forme regroupe les patients de diagnostic précoce et avec les atteintes les plus sévères.

L'hypothèse principale expliquant la pathogénicité de ce déficit enzymatique est que l'accumulation des lipides dans les neurones entraîne un stockage excessif dans les lysosomes qui vont distendre les neurones et causer leur perte.

1. Type I : infantile

Pour ce sous-type le plus grave, l'âge au diagnostic se situe généralement dans les 6 premiers mois de vie.²¹

La clinique est caractérisée parfois en anténatal par un hydrops fœtal, un retard de croissance intra-utérin (RCIU), une vacuolisation placentaire, ou encore une mélanose congénitale.

On retrouve une dysfonction neurologique sévère : retard développemental, hypotonie, spasticité, régression rapide du développement psychomoteur, des convulsions, menant généralement à une rigidité (de décérébration) avant 1 an.

Sont également décrits des signes extra-neurologiques tels que des cardiomyopathies (CMH, CMD, HTA), une hépatosplénomégalie, une dysmorphie faciale représentée par des traits grossiers du visage, une dysplasie squelettique, ou encore une pneumopathie restrictive.

L'un des signes caractéristiques ophtalmologiques de la GM1 de type infantile est l'observation d'une macula rouge cerise.^{22,23,27,29-31}

On note également au niveau du bilan biologique une augmentation des ASAT et, au frottis sanguin, des lymphocytes vacuolés ainsi que des polynucléaires éosinophiles très granuleux.

L'espérance de vie est d'environ 1 à 2 ans, ces enfants devenant souvent aveugles et sourds avant 1 an.^{21-23,26,27}

2. Type II : infantile tardif (IIa) et juvénile (IIb)

L'âge au diagnostic pour ces patients varie de 7 mois à 3 ans pour la forme infantile tardive, et de 3 ans jusqu'à 10 ans pour la forme juvénile.³¹

Ce type a été de description plus difficile puisque les signes cliniques étaient les mêmes que ceux du type I mais de façon atténuée. Cliniquement on retrouve un plateau d'acquisition des étapes clés du développement suivi d'un déclin progressif des compétences motrices et cognitives. Le retard développemental moteur et cognitif est donc de progression plus lente par rapport à la forme infantile de type I.

On retrouve une dysplasie squelettique de sévérité variable, des troubles de l'élocution, des difficultés de déplacement, une opacification cornéenne caractéristique.

Sont également retrouvées parfois une hépatosplénomégalie et une cardiomyopathie.

Par rapport au type I, la viscéromégalie et la macula rouge cerise sont des signes fréquemment absents.

L'espérance de vie varie entre 5 et 10 ans pour la forme infantile tardive, jusqu'à 30 ans pour la forme juvénile.^{21-23,26,29}

3. Type III : adulte ou chronique

L'âge au diagnostic se situe entre 3 ans et 30 ans avec une grande hétérogénéité clinique.

On retrouve une dystonie généralisée (démarche instable, troubles de l'élocution) ainsi que des signes extrapyramidaux qui sont caractéristiques, causés par des dépôts de sphingolipides dans le noyau caudé, le putamen et, dans une moindre mesure, l'amygdale et le globus pallidum⁴⁴, que l'on définit comme un parkinsonisme akinéto-rigide et qui constitue un diagnostic différentiel avec la maladie de Parkinson.

Ces patients ont une atteinte squelettique marquée (petite taille, cyphose, scoliose) et la déficience intellectuelle est fréquente.^{21-23,26,31}

E. Complications

En dehors des formes infantiles précoces, l'infiltration progressive des tissus par les gangliosides GM1 et leurs asialo-dérivés (GA1) peut être responsable d'une insuffisance

rénale d'issue parfois fatale⁴⁵, ainsi que d'une atteinte cardiaque d'aggravation progressive⁴⁶. En 2013, des experts américains recommandaient de façon pluridisciplinaire de contrôler régulièrement l'apparition d'une épilepsie avec risque d'état de mal, et de prévenir lors d'éventuelles anesthésies générales les complications respiratoires et liées à la fragilité osseuse, ainsi que l'endocardite infectieuse en cas de pathologie valvulaire notamment dans les formes chroniques.³¹

Les contractures, la scoliose et la luxation de hanche sont des complications orthopédiques fréquentes liées à l'atteinte squelettique, de même que les pneumopathies d'inhalation et les pathologies pulmonaires restrictives²². Il existe aussi un risque de compression de la moelle épinière en raison de la dysostose vertébrale.³¹

F. Diagnostic positif

1. Clinique

Le diagnostic est évoqué principalement sur les signes cliniques du patient précédemment évoqués, qui correspondent majoritairement aux troubles neuro-dégénératifs et parfois musculo-squelettiques.

2. Biologique

Bien que la présence d'oligosaccharides urinaires soit associée à la gangliosidose à GM1, le dosage de l'activité enzymatique de la bêta-galactosidase dans les leucocytes circulants ou sur fibroblastes en culture et l'analyse moléculaire du gène *GLB1* sont indispensables au diagnostic.^{22,31}

L'excrétion urinaire prédominante de kératane sulfate peut permettre le diagnostic différentiel avec la maladie de Morquio de type B.

Par ailleurs, une élévation modérée de l'activité plasmatique de la chitotriosidase peut être présente dans la gangliosidose à GM1 comme signe aspécifique de maladie lysosomale.

Parmi les autres anomalies biologiques également décrites chez les patients porteurs de gangliosidose à GM1, on retrouve fréquemment une élévation des transaminases et des lymphocytes vacuolés au frottis sanguin (Figure 22).

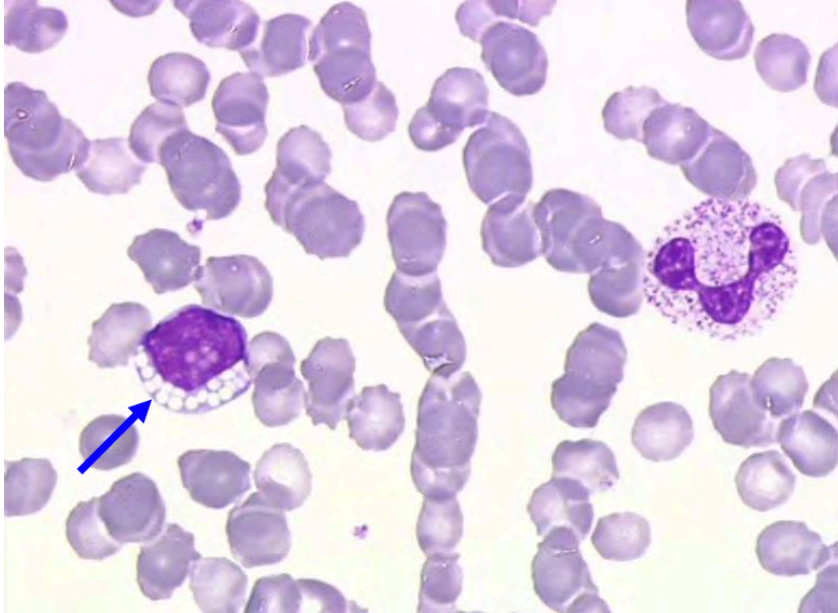


Figure 22 : Aspect en microscopie optique de lymphocytes vacuolés (flèche bleue) sur frottis sanguin. Crédit : Dr Jill Corre, Service d'Hématologie du CHU de Toulouse.

3. Génétique

3.1. *Le gène GLB1*

Le gène *GLB1* est situé sur le bras court du chromosome 3 (3p21.33). Il code pour la β -galactosidase, une enzyme lysosomale permettant la dégradation des gangliosides GM1 et d'autres substrats contenant aussi du β -galactose, tels que le kératane sulfate, un mucopolysaccharide (ou GAG), et des oligosaccharides.

Ce gène contient 16 exons couvrant plus de 60 kb^{26,35,47}. Une longue région intronique existe entre les exons 1 et 2, ainsi qu'entre les exons 10 et 11.⁴⁸

La transcription de *GLB1* conduit à 2 ARNm épissés alternativement :

- Un ARNm de 2,5 kb donnant naissance à une protéine précurseur d'environ 80 kDa qui est transformée dans les lysosomes en la protéine enzymatique β -galactosidase mature de 64 kDa.^{26,35,41,48,49}
- Un ARNm de 2,0 kb, formé par l'épissage des exons 3, 4 et 6, qui code pour la protéine de liaison à l'élastine (EBP) au niveau endosomal²⁶, un chaperon de recyclage clé dans le processus d'assemblage de la tropoélastine pour l'élastogénèse dans la matrice extracellulaire.⁵⁰ Il a été démontré qu'une déplétion

de l'EBP dans le muscle lisse artériel, les fibroblastes et les chondroblastes interfère avec l'assemblage des fibres élastiques.^{35,41,47,48}

Au total, plus de 260 variations pathogènes de *GLB1* ont été identifiées (Figure 23).^{21,22}

Il existe une grande hétérogénéité moléculaire dans la GM1 gangliosidose, entravant une corrélation claire génotype/phénotype et donc possiblement à l'origine d'une hétérogénéité clinique importante et de difficultés diagnostiques.²⁶

De plus, la plupart des patients sont des hétérozygotes composites, ce qui rend difficile la connaissance de l'effet individuel de chaque variation.⁴¹

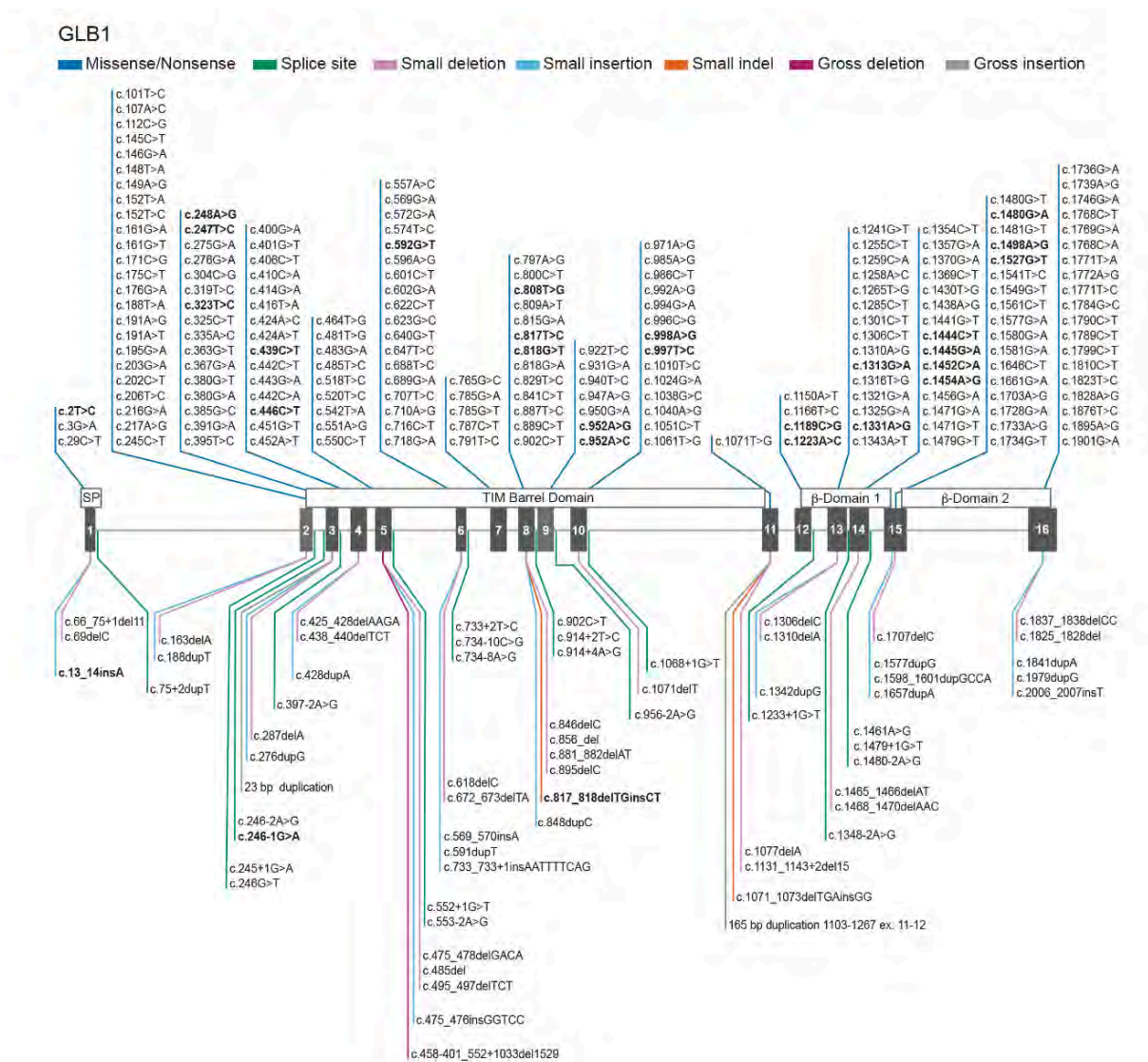


Figure 23 : Génotypes dans la gangliosidose GM1. Représentation schématique de 261 variants *GLB1* avec un phénotype rapporté de gangliosidose GM1 et/ou Morquio B enregistrés dans la base de données HGMD (2021) mis à jour avec les nouvelles variantes de Tebani et al.^{21,51}. Les blocs noirs correspondent aux exons.

Un plus petit sous-ensemble de variations principalement près de l'extrémité 3' de *GLB1* peut entraîner une autre maladie de surcharge lysosomale, la maladie de Morquio B.²¹

Les mutations faux-sens/non-sens sont principalement localisées dans les exons 2, 6, 15 et 16, suggérant que les régions codées par ces exons peuvent avoir des fonctions catalytiques et/ou régulatrices importantes.²⁶

3.2. Examens génétiques

Plusieurs tests peuvent être effectués pour le diagnostic moléculaire³¹ :

- Tests monogéniques : analyse ciblée de la séquence de *GLB1*
- Panel multigénique : analyse simultanée de *GLB1* et d'autres gènes (par exemple, de maladies lysosomales)
- Tests plus complets : séquençage entier de l'exome, voire du génome.

De plus, le diagnostic prénatal est possible par amniocentèse ou biopsie de trophoblaste pour les familles ayant des antécédents de GM1 ou si les tests génétiques révèlent que les deux parents sont porteurs d'un variant allélique pathogène.²²

G. Corrélations génotype-phénotype

En raison de l'hétérogénéité moléculaire étendue, aucune corrélation génotype-phénotype claire n'a été identifiée dans la gangliosidose GM1.

Les mutations associées au type I infantile de gangliosidose GM1 sont, pour la plupart, situées dans la région centrale de la protéine, affectant le site actif, et provoquant une instabilité de la β -galactosidase. Alors que les mutations associées à des phénotypes plus atténués, tels que les gangliosidoses GM1 de types II et III, tendent à affecter les résidus situés à la surface de la protéine.^{21,22,31}

Selon l'étude de Tebani et al.⁵¹, la corrélation génotype-phénotype est variable, mais certaines variations sont néanmoins associées à des sous-groupes de phénotypes cliniques spécifiques telles que les formes de GM1 précoces, tardives et la maladie de Morquio B (qui est discutée plus loin, dans le cadre du diagnostic différentiel ; paragraphe V.B.2).

Certaines variations telles que c.602G>A (p.Arg201His) ont été décrites comme « protectrices » du phénotype sévère et associées aux GM1 gangliosidoses d'apparition tardive et à la maladie de Morquio B.

Dans cette étude⁵¹, cinq variations (c.176G>A, c.245+1G>A, c.569G>A, c.1577dup et c.1733A>G) ont été décrites comme associées à une forme précoce. Un autre variant, c.1313G>A, a été lié à un phénotype d'apparition tardive (Figure 24).

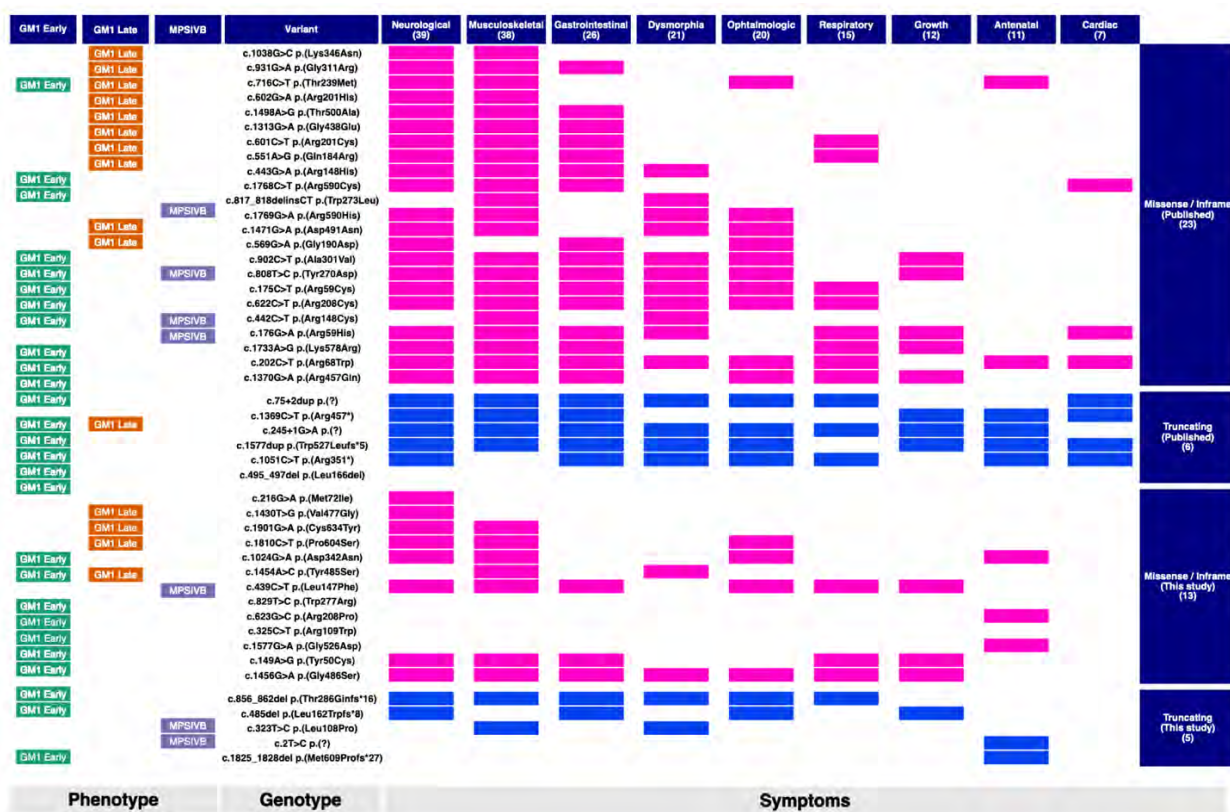


Figure 24 : Résumé des phénotypes cliniques et moléculaires. Relations entre les caractéristiques cliniques et leurs altérations moléculaires sous-jacentes, y compris les variantes, le phénotype clinique et les symptômes.⁵¹

H. Traitement

À l'heure actuelle, seule une thérapie symptomatique et de soutien est disponible pour les patients atteints de GM1 gangliosidose. La prise en charge est multidisciplinaire avec une partie rééducative (kinésithérapie, orthophonie, psychomotricité, orthoptie) et une partie de traitements médicamenteux symptomatiques des complications neurologiques comme la spasticité ou les mouvements anormaux.

Différentes stratégies ont été explorées pour traiter cette maladie (Figure 25), essentiellement sur des modèles animaux, très peu en essais cliniques.^{21,26}

Les traitements les plus prometteurs contre la GM1 comprennent l'enzymothérapie substitutive, la thérapie par réduction de substrat, la transplantation de cellules souches et la thérapie génique⁵².

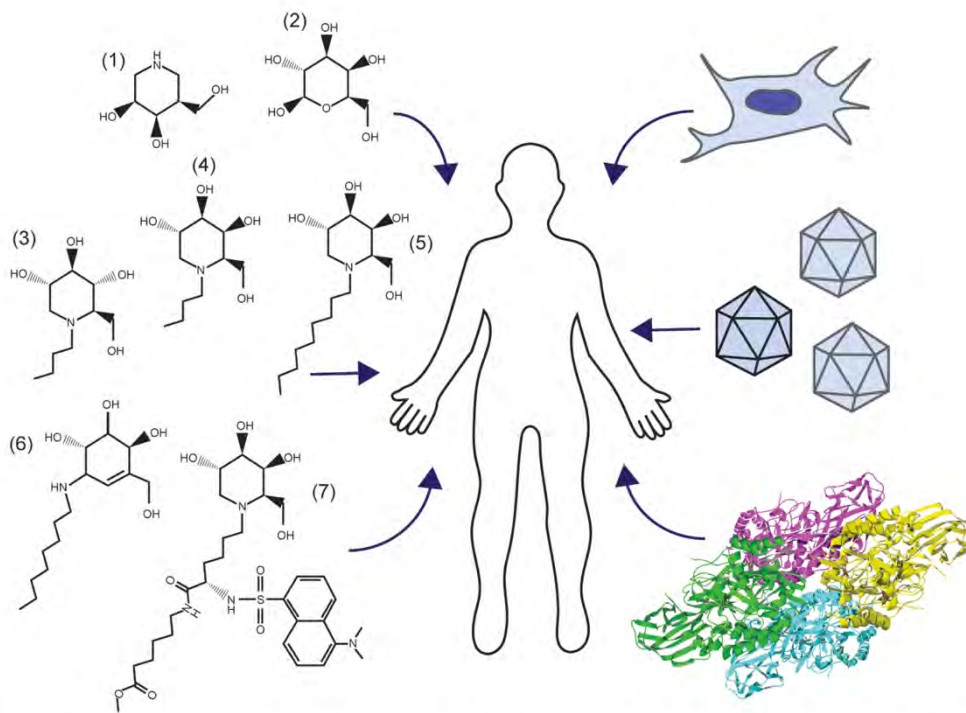


Figure 25 : Options de prise en charge thérapeutique de la GM1 gangliosidose.²²

1. Enzymothérapie

L'ERT, dans laquelle les enzymes sont administrées par voie intraveineuse (très généralement, sauf dans de rares situations par voie intrathécale) chaque semaine ou toutes les deux semaines, est disponible pour certaines maladies de surcharge lysosomale mais des améliorations du point de vue biologique et clinique (et du pronostic) ne sont observées que dans les organes périphériques car les enzymes circulantes ne peuvent pas traverser la barrière hémato-encéphalique (BHE). Ainsi, la principale limitation de l'ERT, en particulier pour son utilisation dans la GM1 gangliosidose, est qu'elle ne diffuse pas dans le SNC.

Pour la GM1 gangliosidose, une β -galactosidase humaine recombinante a été produite par des cellules de mammifères, des plantes ou des levures, permettant son utilisation

potentielle en ERT. Des modèles précliniques ont démontré que même une restauration partielle de l'activité de la β -galactosidase permettait d'éliminer les gangliosides GM1 et d'autres substrats stockés.

La recherche visant à utiliser l'ERT comme option pour la GM1 gangliosidose se concentre donc sur des approches d'administration ciblées sur le cerveau. Une approche impliquant l'administration intracérébroventriculaire (ICV), directement dans le liquide céphalo-rachidien (LCR), a montré une augmentation des concentrations de β -galactosidase au niveau du cerveau de souris atteintes de GM1 gangliosidose. Cependant, les injections ICV sont invasives et à haut risque.

L'administration IV pourrait réduire considérablement la charge et les risques pour le patient, mais nécessitera un transport via la BHE. Généralement, ces stratégies sont basées sur la délivrance de β -galactosidase, parfois grâce à des nanoparticules et avec un ciblage de ligands pour permettre la pénétration dans le cerveau. Ainsi, par exemple, l'injection d'une enzyme fusionnée à un anticorps monoclonal dirigé contre la transferrine à des souris (deux fois par semaine pendant 17 semaines) a conduit à des améliorations fonctionnelles^{52,53}.

2. Thérapie de réduction de substrat

Ce mode de traitement pour la GM1 gangliosidose implique l'inhibition (non complète) de la céramide β -glucosyltransférase (ou glucosylcéramide synthase), l'enzyme responsable de la biosynthèse de la plupart des glycosphingolipides (GSL)⁵². Réduire la synthèse de substrat accumulé sans moyen de le dégrader peut minimiser l'impact de cette approche thérapeutique sur les symptômes de la maladie. Ainsi, un certain degré d'activité β -galactosidase résiduelle est considéré comme essentiel, ce qui restreint l'utilisation de cette thérapie par réduction de substrat aux patients atteints des formes non infantiles.

Les souris GM1 gangliosidose traitées par du Miglustat n'ont montré aucune augmentation significative de la survie par rapport aux souris non traitées en raison de l'exacerbation du dysfonctionnement intrinsèque du tractus gastro-intestinal. Cependant, il y avait une amélioration fonctionnelle significative et une diminution de la neuro-inflammation²².

Chez trois patients italiens atteints de formes juvéniles ou adultes de gangliosidose GM1, le Miglustat aurait produit de nettes améliorations de la présentation clinique²².

Néanmoins, le traitement d'individus, d'animaux ou de lignées cellulaires de génotype variable avec le Miglustat n'a pas été exploré de manière exhaustive. Par conséquent, l'efficacité du Miglustat pour tous les patients atteints de formes atténuées de GM1 reste un domaine d'investigation active.

Le N-Butyl-Desoxygalactonojirimycine (NB-DGJ), un dérivé du galactose, inhibe de manière similaire la glucosylcéramide synthase. Les souris traitées par ce composé ont eu une augmentation de 50% de leur durée de vie par rapport aux souris non traitées et une diminution significative de la neuro-inflammation. Les souriceaux nouveau-nés traités avec NB-DGJ présentaient une réduction significative des gangliosides GM1 cérébraux.^{21,22}

Les différentes études ayant utilisé des iminosucres ont donc pour le moment démontré une efficacité modeste de cette stratégie pour réduire le stockage lysosomal chez les souris affectées par la GM1 gangliosidose à un stade précoce⁵².

3. Chaperons pharmacologiques

Des essais menés sur un modèle murin de gangliosidose à GM1 ont démontré que la N-octyl-4-épi- β -valiénamine (NOEV, un analogue du galactose) se distribue de manière efficace dans le cerveau. Un composé dérivé, la 5N,6S-(N'-butyliminométhylidène)-6-thio-1-desoxygalactonojirimycine (ou 6S-NBI-DGJ) permet d'augmenter l'activité de l'enzyme déficiente, de diminuer la surcharge et d'atténuer la neuropathologie chez des souris ayant une GM1 gangliosidose (souris portant le variant Arg201Cys) s'il est administré au stade précoce de la maladie^{21,54}.

4. Transplantation de cellules souches

Au début de la maladie, la greffe de CSH pourrait améliorer les symptômes de la GM1 gangliosidose, bien que pour un bénéfice optimal la greffe doive être entreprise au cours des premières semaines de vie ; un argument de poids en faveur du dépistage néonatal universel de la maladie GM1.

Bien qu'elle puisse être utilisée avec succès dans la gangliosidose GM1, avec une diminution des symptômes viscéraux, la diminution à long terme des symptômes neurologiques est moins probable.²¹

En 2004, le groupe d'A. d'Azzo a transplanté des CSH issues de souris saines (et transduites par des lentivirus pour produire de la β -galactosidase) à des souris atteintes de GM1 gangliosidose. Ces cellules souches sont restées présentes pendant 6 mois. Une deuxième injection a conduit à une certaine expression de β -galactosidase dans le cervelet et le tronc cérébral. Plus récemment, la transplantation de cellules souches dérivées de la moelle osseuse de souris invalidées (β -gal $^{-/-}$) mais transduites par un lentivirus codant pour la β -galactosidase a permis d'observer une augmentation significative de l'activité enzymatique dans le cerveau, l'hippocampe et le cervelet (jusqu'à 19,7 % des souris normales) avec une diminution correspondante des produits de stockage, y compris le ganglioside GM1. Une transplantation secondaire 32 semaines après la transplantation aurait pu contribuer au maintien de l'activité enzymatique, même si l'activité diminuait toujours^{52,55}.

5. Thérapie génique

L'administration de vecteurs AAV codant la β -galactosidase par injection intracérébroventriculaire à des souriceaux GM1 a entraîné une enzyme largement distribuée et une normalisation des taux de glycosphingolipides. L'injection intra-thalamique directe et l'injection dans les noyaux cérébelleux profonds du vecteur AAV2/1- β -Gal chez des souris GM1 adultes ont permis une distribution de l'activité enzymatique dans tout le cerveau et une réduction complète du stockage de GM1 dans toutes les régions sauf la moelle épinière.^{21,22}

Même si les modèles murins jouent un rôle crucial dans l'élucidation de la pathogenèse et l'exploration de thérapies, ils ne reproduisent pas entièrement les maladies humaines. La GM1 gangliosidose féline constitue un modèle remarquable représentant les GM1 tardives ou juvéniles. Gray-Edwards et coll. ont traité des chats atteints de GM1 gangliosidose par injections intracrâniennes d'AAVrh8 codant pour la β -galactosidase féline. Les niveaux de gangliosides GM1 chez les félins traités par AAVrh8 ont été rétablis à leur valeur normale^{52,56}.

V. Diagnostic différentiel

A. GM2 Gangliosidose

1. Physiopathologie

La GM2 gangliosidose est également de transmission autosomique récessive avec un continuum de présentations cliniques allant d'une forme infantile sévère à une forme adulte chronique plus modérée.

L'accumulation progressive de gangliosides GM2 est secondaire à une déficience de l'enzyme β -hexosaminidase A (HexA). Elle est la cause sous-jacente des maladies de Tay-Sachs et de Sandhoff¹¹. L'HexA est un hétérodimère composé de 2 sous-unités, α et β .

La maladie de Tay-Sachs est causée par des mutations du gène *HEXA* (chromosome 15q24.1), codant pour la sous-unité α . La maladie de Sandhoff est causée par des mutations du gène *HEXB* (chromosome 5q13), provoquant une déficience de la sous-unité β . Cette maladie touche par conséquent l'HexA et l'enzyme β -hexosaminidase B (HexB), un homodimère de la sous-unité β , qui dégrade certains oligosaccharides.^{7,25}

Une troisième protéine, dite activateur du GM2, codée par le gène *GM2A* (chromosome 5q33.1) est également nécessaire à la dégradation du ganglioside GM2, en permettant l'extraction du ganglioside GM2 de la membrane pour sa présentation à l'HexA.²³

Bien que rare dans la population générale, la maladie de Tay-Sachs infantile est mieux connue que la gangliosidose GM1 en raison de son incidence historiquement plus élevée et de sa fréquence de portage accrue dans les populations juive ashkénaze, canadienne-française et cajun.²³

2. Clinique

Contrairement à la GM1 gangliosidose, la GM2 gangliosidose affecte principalement le système nerveux central. L'âge moyen d'apparition des symptômes est de 5 ans, les troubles de la marche et le défaut de coordination étant les signes les plus courants. Les patients juvéniles atteints de maladie de Sandhoff sont plus susceptibles d'avoir des

troubles psychiatriques et neuropathiques que les patients Tay-Sachs qui eux ont plus de dysphagie, d'incontinence et de troubles du sommeil.

La plupart des patients atteints de gangliosidose GM2 juvéniles succombent à leur maladie au cours de la deuxième décennie.²³

B. Mucopolysaccharidoses

1. Généralités

Les mucopolysaccharidoses (MPS) sont des maladies de surcharge lysosomale caractérisées par une atteinte multiviscérale due à l'accumulation de glycosaminoglycanes (GAG) dans les lysosomes. Les enzymes intervenant dans la dégradation des GAG sont déficitaires dans ces pathologies. Selon l'enzyme déficiente, sept types de mucopolysaccharidoses et 11 entités génétiques distinctes ont été décrites (Tableau 2).¹¹

Pathologie/OMIM	Enzyme déficiente	Substrat accumulé	Gène
MPSI / 607014	Alpha-L-iduronidase	DS, HS	<i>IDUA</i>
MPSII / 309900	Iduronate-2-sulfatase	DS, HS	<i>IDS</i>
MPSIIIA / 252900	Héparane-N-sulfatase	HS	<i>SGSH</i>
MPSIIIB / 252920	N-acétyl- α -glucosaminidase	HS	<i>NAGLU</i>
MPSIIIC / 252930	Acétyl-CoA : α -glucosaminidaseNacetyltransférase	HS	<i>HGSNAT</i>
MPSIIID / 252940	N-acétylglucosamine 6-sulfatase	HS	<i>GNS</i>
MPSIVA / 253000	N-acétylgalactosamine-6 sulfatase	KS, CS	<i>GALNS</i>
MPSIVB / 253010	β -galactosidase	KS	<i>GLB1</i>
MPSVI / 253200	Arylsulfatase B (N-acétyl galactosamine 4-sulfatase)	DS,CS	<i>ARSB</i>
MPSVI / 253220	β -glucuronidase	DS, CS, HS	<i>GUSB</i>
MPS IX / 601492	Hyaluronidase	AH	<i>HYAL1</i>

Tableau 2 : Enzyme déficiente, substrat accumulé et gène en cause dans les MPS. Abréviations : CS = chondroïtine sulfate, DS = dermatane sulfate, HS = héparane sulfate, KS = kératane sulfate, AH = acide hyaluronique (d'après²).

Les MPS sont des maladies rares dont l'incidence varie entre 1/25 000 et 1/400 000 selon le type de maladie. La transmission est le plus souvent autosomique récessive sauf pour la MPS type II qui est liée à l'X. Les symptômes sont progressifs, de sévérité variable secondaires à l'atteinte du système nerveux, du système musculo-squelettique, du foie, de la rate, des yeux et du cœur à des degrés variables selon le type de MPS.

Il n'existe actuellement aucun traitement curatif. Leur prise en charge est essentiellement symptomatique et multidisciplinaire : outre l'ERT et la transplantation de CSH (pour certaines MPS), traitement antalgique, prise en charge des troubles neuropsychiatriques, chirurgie orthopédique pour corriger les déformations articulaires, décompression médullaire, remplacement valvulaire cardiaque, traitement chirurgical du canal carpien, traitement chirurgical des hernies inguinales ou ombilicales, prise en charge rééducative globale (kinésithérapie, psychomotricité...).

Nous discuterons ici principalement de la mucopolysaccharidose de type IV B, variante allélique de la gangliosidose GM1.

2. La maladie de Morquio B

2.1. Généralités

La gangliosidose GM1 et le syndrome de Morquio B (ou MPS IV B) sont tous deux dus à un déficit en bêta-galactosidase (donc à des mutations du gène *GLB1*).²⁵

La maladie de Morquio B est également de transmission autosomique récessive, avec une prévalence rapportée de 1/250 000 à 1 000 000 naissances vivantes.^{29,31}

Elle entraîne l'accumulation d'un biomarqueur caractéristique, le kératane sulfate, un GAG renfermant du β -galactose.

Les activités résiduelles de la β -galactosidase mesurées in vitro ne sont pas corrélées avec le phénotype GM1 gangliosidose ou Morquio B.^{50,57}

2.2. Clinique

Les premiers cas de la maladie de Morquio ont été décrits en 1929. Cette maladie inclut deux sous-types, génétiquement distincts : type A (Morquio A) et type B (Morquio B).

Comme pour les autres MPS, la sévérité des symptômes est variable et plusieurs formes cliniques ont été décrites allant du phénotype sévère au phénotype atténué.

L'âge du diagnostic se situe entre 3 ans et 5 ans. Les anomalies squelettiques prédominent avec la déformation spinale et le retard de croissance. Il n'y a pas de déficit neurosensoriel ni psychomoteur contrairement à la GM1 gangliosidose.

La maladie de Morquio B peut présenter un phénotype squelettique pur (Morquio B disease « MBD pure ») ou en association avec des manifestations neuropathiques comme celles observées dans la GM1 gangliosidose de type II juvénile ou de type III (« MBD plus »).^{7,21,50,57}

Elle est indiscernable cliniquement de la maladie de Morquio A (due à des mutations du gène *GALNS*). En effet, alors que génétiquement, la maladie de Morquio B est une variante allélique de la gangliosidose GM1, cliniquement, il s'agit d'une phénocopie légère de la maladie de Morquio A, qui se caractérise par le même type de dysplasie spondylo-épiphysaire impliquant les parties trabéculaires des os longs et de la colonne vertébrale.⁵⁰

On retrouve en particulier une petite taille, une dysostose multiplexe unique, provoquant une dysplasie spondylo-épiphysaire. Les patients atteints de la maladie de Morquio B présentent des altérations et des déformations du squelette progressives, mais n'ont pas de déficit cognitif contrairement à la GM1 gangliosidose, et ont une espérance de vie quasi-normale. La principale complication de la dysostose vertébrale est la compression de la moelle épinière par sténose du canal rachidien.

Alors qu'ils étaient auparavant considérés comme deux phénotypes distincts, Morquio B et GM1 gangliosidose sont de plus en plus considérés comme deux troubles sur un spectre continu avec des symptômes et des anomalies métaboliques qui se chevauchent (Tableau 3).²⁸

Atteinte	Symptômes
Squelettique	Cyphoscoliose, pectus carinatum, tronc court, petite taille < au 15 ^e centile, Cou court, tête large et hypoplasie milieu du visage, Protrusion mandibulaire, articulations élargies, pieds plats, coxa et genu valga, hyperlaxité articulaire, sténose trachéale
Radiologique	Platyspondylie avec bec platyspondylien et vertébral, hypoplasie odontoïde, Rétrécissement du canal rachidien, dysplasie de la hanche, des os du carpe et du tarse, raccourcissement et dysplasie épi- et métaphysaire des os longs
Neurologique	Dystonie, dysphagie, dysarthrie, ataxie, retard intellectuel et cognitif, épilepsie, compression de la moelle épinière
Ophthalmologique	Opacités cornéennes (principalement chez les patients qui avaient des mutations comme W273L et Y333C)
Cardiopulmonaire	Pathologie valvulaire cardiaque, poumons petits mais fonctionnels, pathologie restrictive liée aux anomalies structurelles de la poitrine, sténose trachéale
Autre	Troubles du sommeil, anomalies dentaires, hypertrophie amygdalienne

Tableau 3 : Résumé des caractéristiques cliniques de la maladie de Morquio B.^{31,49,50,59}

2.3. Biomarqueurs

Alors que dans la gangliosidose GM1 les principaux substrats accumulés (GM1 et GA1) affectent le système nerveux central, dans la MPS type IV il existe une surcharge en kératane sulfate dans les os et le cartilage.^{50,57}

Le kératane sulfate est impliqué dans des fonctions biologiques spécifiques, notamment l'hydratation des tissus, la reconnaissance cellulaire de ligands protéiques, le guidage axonal, la motilité cellulaire et l'implantation de l'embryon.⁵⁸

L'excrétion urinaire de kératane sulfate est inconstante, mais peut orienter le diagnostic. Le diagnostic est confirmé par le dosage de l'activité de la bêta-D-galactosidase dans les leucocytes ou les fibroblastes en culture.

2.4. Diagnostic génétique

Les variants W273L et T500A sont les plus fréquemment observés, p.W273L étant associé systématiquement à la forme pure de maladie de Morquio type B.⁴⁹

La mutation W273L se produit dans une région hautement conservée du gène *GLB1* où le résidu d'acide aminé Trp273 est situé à l'entrée de la poche de liaison au substrat, qui agit comme un support pour la réaction catalytique (Figure 26). Cette mutation affecte la dégradation du kératane sulfate plus sévèrement que celle du ganglioside GM1, expliquant la prédominance des manifestations squelettiques.⁴⁹

Le variant p.T500A est le deuxième allèle le plus répandu qui a été observé chez les patients présentant un phénotype pur ou associé à des manifestations neuropathiques (notamment la dystonie, la dysarthrie, la dysphagie, l'ataxie, le retard cognitif et l'épilepsie⁴⁹). C'est une mutation faux-sens provoquant la dégradation prématurée de la β -galactosidase. Bien que la substitution T500A n'ait pas encore été décrite à l'état homozygote, sa présence à l'état hétérozygote composite est associée à une excrétion anormale de kératane sulfate, expliquant son association avec la maladie de Morquio.^{50,57}

Selon l'étude de Abumansour et al.⁴⁹, un seul cas homozygote pour le variant R210H a été rapporté dans le phénotype pur, cependant cette association reste à confirmer dans plus de cas. Les variants G438E et Y333C homozygotes ont été associés à la forme de « MBD plus », dans des cas isolés. Le variant G438E s'accompagne d'une activité résiduelle relativement élevée (6-10%).

Les résultats des tests d'activité enzymatique utilisant différents substrats naturels suggèrent que le variant Y333C, similaire à W273L, affecte le site actif de la β -galactosidase plutôt que sa stabilité enzymatique. Y333H n'est pas invariablement associé à la maladie de Morquio, car des cas homozygotes ont été décrits avec une gangliosidose GM1 de type II (juvénile) dépourvue des caractéristiques spécifiques du syndrome de Morquio.^{49,50}

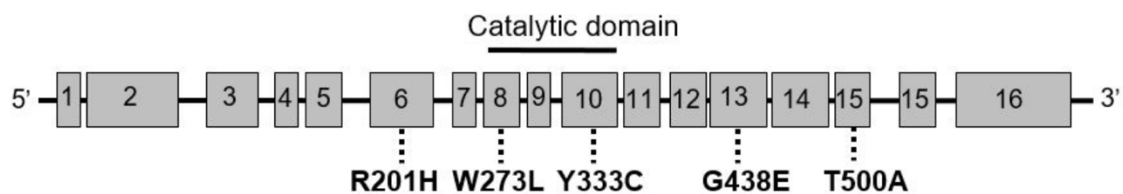


Figure 26 : Structure du gène humain *GLB1* et mutations liées à la maladie de Morquio B.⁵⁰

3. Autres mucopolysaccharidoses

La maladie de Morquio A (ou MPS type IV A) est due à un déficit en N-acétylgalactosamine-6-sulfatase (mutation du gène *GALNS*) qui intervient aussi dans la dégradation lysosomale du kératane sulfate et de la chondroïtine-6-sulfate. Le kératane sulfate s'accumule alors dans les yeux et dans le cartilage.^{48,50,59}

La prévalence de la maladie de Morquio A est d'environ 1/250 000.

C'est une maladie multi-systémique progressive de sévérité variable. Certaines formes sont sévères et il existe parfois des signes anténataux (anasarque). Dans les formes intermédiaires, les signes cliniques sont progressifs et apparaissent entre 1 et 5 ans. Les déformations osseuses sont généralement les premiers symptômes : pectus carinatum, genu valgum, cyphose, scoliose, platyspondylie, déformation des os longs. Les patients présentent un retard statural avec une petite taille finale et une dysplasie spondylo-épiphysaire.⁵⁰

L'une des complications graves est la compression de la moelle épinière par hypoplasie de l'odontoïde, hyperlaxité des ligaments avec instabilité des deux premières vertèbres cervicales, et dépôt de GAG dans l'espace extradural antérieur. Il existe une hyperlaxité des poignets contrastant avec une limitation des articulations proximales.

Des symptômes extra-osseux apparaissent plus tard : surdité, valvulopathie, opacification de la cornée, infections oto-rhino-laryngologiques, syndrome pulmonaire restrictif.

Le statut cognitif est normal.

Le diagnostic est confirmé par le dosage de l'activité de la N-acétylgalactosamine-6-sulfatase.⁵⁸

C. Oligosaccharidoses

La Sialidose est causée par des mutations du gène *NEU1* codant pour la neuraminidase 1. Elle est divisée en deux sous-types cliniques principaux : la sialidose de type I est la forme la moins sévère de la maladie, non dysmorphique, caractérisée par des troubles de la marche, une perte visuelle progressive, des taches maculaires bilatérales rouge cerise et une myoclonie qui se manifeste à l'adolescence et à l'âge adulte. La sialidose de type II est la forme la plus sévère, apparaissant précocement et se caractérisant par un phénotype de type MPS sévère et progressif, avec un visage grossier, une viscéromégalie, une atteinte osseuse, et un retard de développement. Les taches maculaires rouge cerise sont aussi présentes.⁴⁸

La Galactosialidose est causée par des mutations du gène de la cathepsine A (*CTSA*) et est caractérisée par le déficit (apparent) combiné en neuraminidase et bêta-galactosidase. L'activité de la bêta-galactosidase est réduite à des niveaux très bas dans la galactosialidose, car la cathepsine A est l'élément dit protecteur d'un complexe multiprotéique contenant la galactosidase et la neuraminidase.⁴⁸

Cette maladie se manifeste par des traits grossiers du visage, une tache rouge cerise de la macula et une dysostose. La présentation clinique peut être hétérogène, variant d'une forme infantile sévère, d'apparition précoce et rapidement progressive à une forme juvénile/adulte d'apparition tardive et lentement progressive.

VI. EXPLORATIONS BIOLOGIQUES

Étant donné le caractère original de la pathologie de notre patient, en raison de la présentation clinique atténuée et de la découverte d'une anomalie génétique non décrite dans la littérature, nous avons souhaité investiguer plus amplement les bases moléculaires de ce phénotype atténué.

A. Dosage des oligosaccharides urinaires

Plusieurs maladies de surcharge lysosomale s'accompagnent d'une oligosaccharidurie, témoignant d'un défaut de dégradation des oligosaccharides et donc des glycoprotéines. Selon la nature du déficit enzymatique, différents types d'oligosaccharides s'accumulent (Figure 27). Le dépistage des oligosaccharides présents dans les urines est la première étape du diagnostic des oligosaccharidoses. Il peut se faire par chromatographie sur couche mince ; plus récemment, des méthodes basées sur la spectrométrie de masse ont été développées.

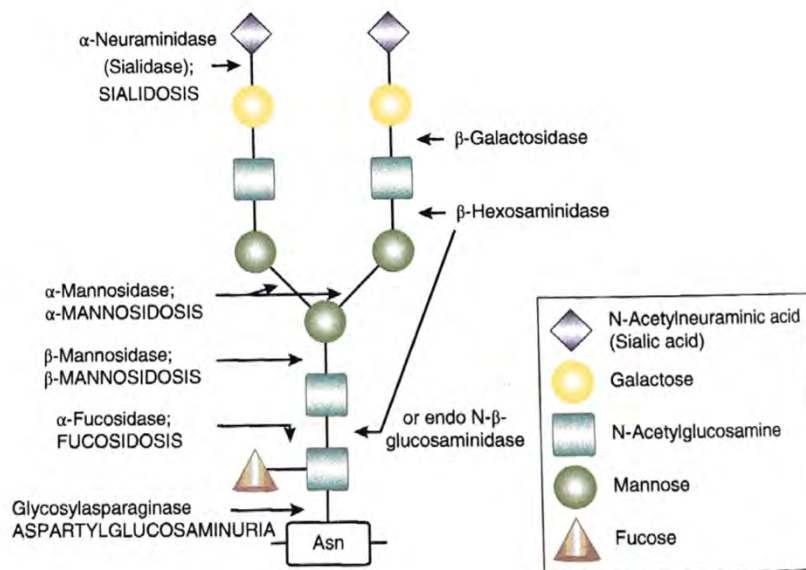


Figure 27 : Représentation schématique de la structure d'un oligosaccharide porté par une protéine N-glycosylée (au niveau d'un résidu d'asparagine, Asn), et des étapes enzymatiques impliquées dans sa dégradation lysosomale⁶⁷. Ce schéma indique aussi le nom des maladies correspondantes aux déficits enzymatiques.

1. Chromatographie sur couche mince

1.1. Méthode

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une chromatographie dans laquelle les solutés restent en contact avec la phase mobile et la phase stationnaire durant la même période de temps. Ils parcourent différentes distances en fonction de leurs interactions avec les deux phases. La rétention de chacun des solutés est caractérisée par le rapport frontal R_f (Figure 28).

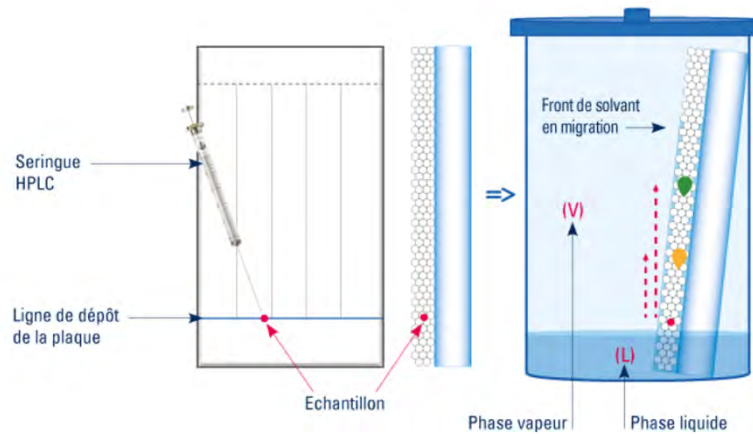


Figure 28 : Représentation schématique de la méthode chromatographique sur CCM (https://blog_fr.interchim.com/guide-chromatographie-couche-mince-ccm/)

Après dosage de la créatinine des urines des patients, un volume urinaire renfermant une quantité fixe de créatinine est déposé sur une plaque de gel de silice en formant un dépôt de 2 cm de large. Deux dépôts de concentrations différentes sont réalisés par patient (10ug et 20ug de créatinine). Un standard de 10ug de lactose est déposé comme témoin de migration ainsi qu'un échantillon d'urine d'un témoin positif (patient atteint d'alpha-mannosidose). La chromatographie est développée dans un mélange de solvants butanol/acide acétique/eau pendant 15h⁶⁰. Les oligosaccharides sont révélés en pulvérisant la plaque avec un spray contenant de l'orcinol puis en chauffant à 110°C quelques minutes.

Cette méthode, encore utilisée, a l'avantage d'être peu coûteuse mais elle nécessite du temps dans sa mise en œuvre, elle est peu sensible et requiert de l'expérience pour son interprétation. De plus, il existe de nombreuses interférences médicamenteuses (par exemple l'amikacine) et il peut exister des faux négatifs surtout dans le cas de patients adultes ou ayant une faible excrétion urinaire.⁶¹

1.2. Résultats

Le lactose est un diholoside (oligosaccharide simple), par conséquent les oligosaccharides migrant moins loin que le lactose (ayant un Rf plus petit) sont des dérivés plus complexes normalement absents des urines car dégradés par les enzymes lysosomales.

Notre patient ayant un déficit en β -galactosidase, qui est une des premières enzymes de la voie de dégradation des oligosaccharides, on retrouve 2 bandes épaisses à la base de la plaque, témoignant de l'accumulation de sucres non dégradés (Figure 29).

Ce résultat est très semblable à celui présenté dans la Figure 30 tirée de la littérature pour un cas de GM1 gangliosidose (SSIEM Academy 2010 Ruijter G.).

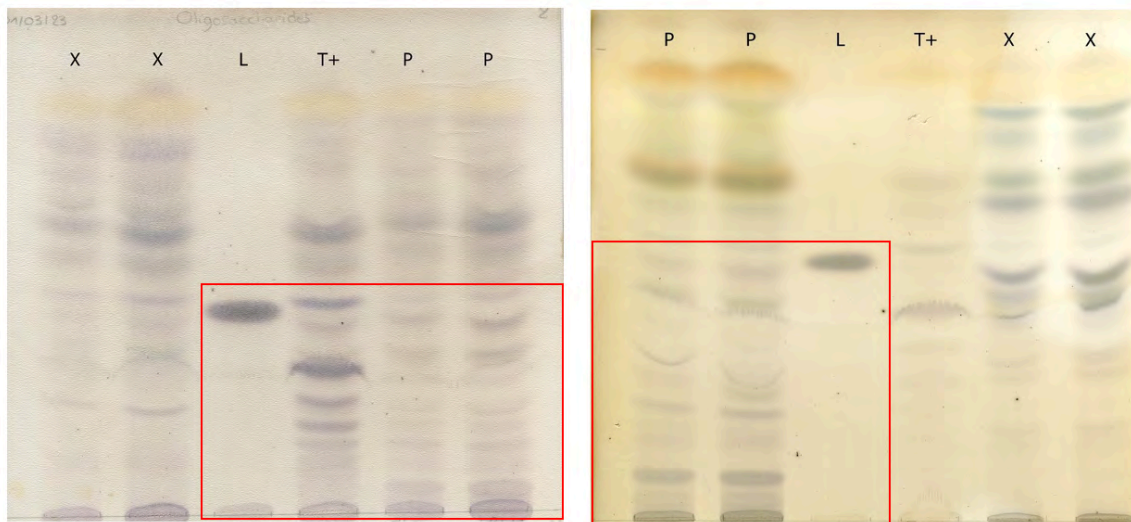


Figure 29 : Chromatographie sur couche mince (CCM) des oligosaccharides urinaires. P = notre patient, T+ = patient atteint d'alpha-mannosidose, L = lactose, X = un autre patient. A gauche examen en date du 01/03/2023 ; à droite, en date du 10/01/2023.

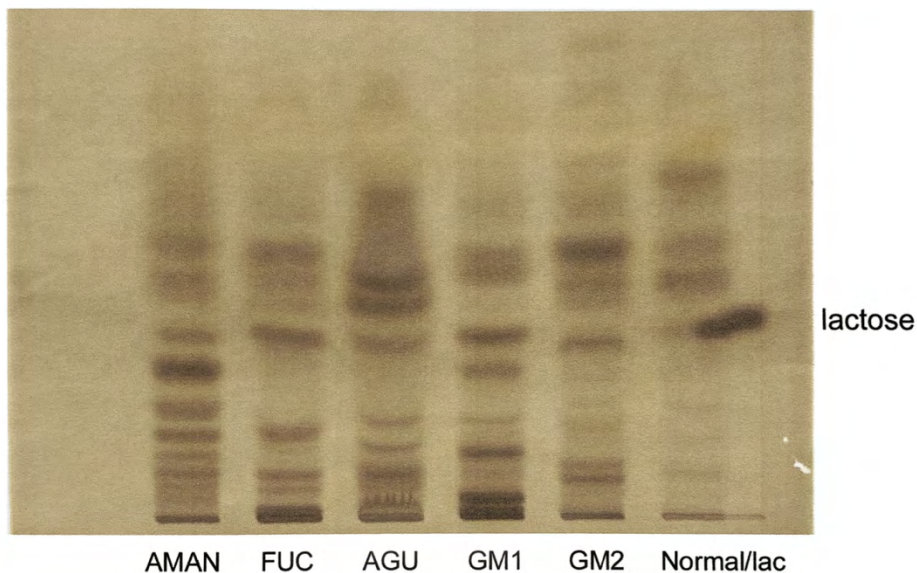


Figure 30 : CCM représentant les oligosaccharides urinaires accumulés dans diverses oligosaccharidoses. AMAN = alpha-mannosidose, FUC = fucosidose, AGU = aspartylglucosaminurie, GM1 = GM1 gangliosidose, GM2 = GM2 gangliosidose (SSIEM Academy 2010 Ruijter G.)

2. Spectrométrie de masse (LC-MS/MS)

2.1. Méthode

Une technique plus sensible a été récemment développée pour le dépistage des oligosaccharides dans les urines et le liquide amniotique (Piraud et al.⁶¹). Cette méthode utilise la Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) qui permet de séparer les différents composants d'un mélange. Cet appareil implique l'utilisation d'une phase (ou colonne) stationnaire et d'une phase mobile liquide. De façon générale, la phase mobile circule à travers la phase stationnaire en entraînant avec elle les différents composants de l'échantillon. Selon leurs propriétés physicochimiques et leurs affinités avec la phase mobile et la phase stationnaire, les composés d'un même échantillon seront élués à différents temps de rétention, ce qui permet de les séparer. Plus les interactions entre un composé et la phase stationnaire sont importantes, plus ce composé éluera tardivement. Les molécules sont ensuite détectées et quantifiées (grâce à des étalons internes) par spectrométrie de masse.

Les échantillons d'urine sont préparés en mélangeant 50uL d'urine, 50uL de Glc7 (Maltoheptaose) et 450uL d'acétonitrile 37% contenant 0,2% d'acide formique. Des volumes de 10uL ont été injectés pour l'analyse. La détection se fait en mode dit MRM (surveillance de réactions multiples). Cette méthode permet l'identification de toutes les oligosaccharidoses précédemment identifiées par CCM et s'étend au diagnostic de la mucopolidose de type II, de la maladie de Sandhoff, et de la β -mannosidose.⁶¹

2.2. Résultats

Après avoir injecté les échantillons servant de contrôles de qualité pour toutes les oligosaccharidoses, on injecte dans le chromatographe les échantillons de chaque patient en diluant au 1/10 et 1/5. Pour le contrôle correspondant à la GM1 ganglioside, on retrouve le pic caractéristique (temps de rétention à 3,05 min) (Figure 31A).

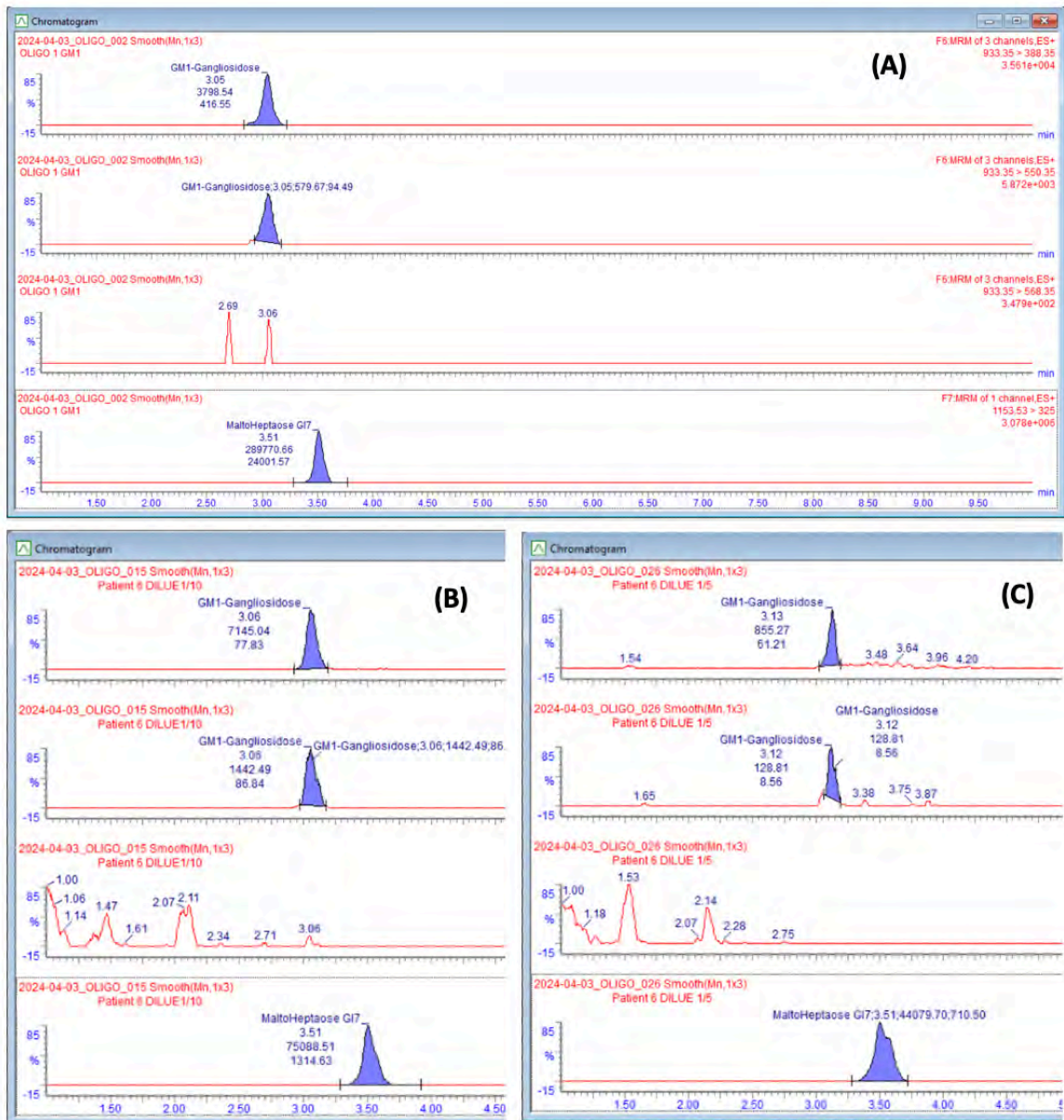


Figure 31 : Analyse par LC-MS/MS des urines. (A), contrôle de qualité montrant le pic détecté dans le cadre d'une GM1 ganglioside. Urine de notre patient diluée au 1/10 (B) et 1/5 (C).

Concernant l'urine de notre patient, on retrouve ce même pic caractéristique de l'oligosaccharide accumulé en cas de déficit en β -galactosidase lysosomale, avec une aire sous la courbe nettement élevée et un temps de rétention identique (Figures 31B et 31C), ce qui confirme le diagnostic de GM1 gangliosidose.

B. Caractérisation de l'anomalie génétique

1. Séquençage Sanger

1.1. Automate

Nous avons effectué nos examens sur l'automate Applied Biosystems® Sanger Sequencing 3500 Series Genetic Analyzers

1.2. Définition

La méthode de Sanger est une technique qui permet de déterminer la séquence de nucléotides d'un ADN. Elle a été mise au point en 1977 par Frederick Sanger et son équipe. Les quatre nucléotides sont l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) et la thymine (T). Ces nucléotides sont les éléments chimiques constitutifs de l'ADN. L'ordre ou la séquence de ces nucléotides constitue le support de l'information génétique. Le séquençage se déroule en trois grandes étapes décrites ci-dessous (Figure 32).

1.3. Déroulement

PCR à terminaison de chaîne :

La séquence d'ADN d'intérêt sert de matrice pour un type spécial de PCR appelé PCR à terminaison de chaîne. Cette PCR fonctionne comme une PCR standard à une différence près : l'ajout de nucléotides modifiés appelés didésoxyribonucléotides (ddNTP).

L'échantillon d'ADN est préalablement chauffé (dénaturé) pour séparer les deux brins de sa double hélice. La prochaine étape consiste à abaisser la température et à ajouter une amorce d'ADN. Ce monobrin court d'ADN s'apparie au brin d'ADN à séquencer (matrice). Elle indique le début du séquençage. Par la suite, on augmente légèrement la température et on ajoute des nucléotides libres (dNTP, contenant l'une des quatre bases A, G, C et T) ainsi qu'une petite quantité de ddNTP et une enzyme appelée ADN polymérase. A partir de l'extrémité de l'amorce, l'ADN polymérase construit un brin d'ADN (complémentaire de la matrice) en incorporant un dNTP ou un ddNTP ; dans ce dernier cas, l'incorporation du ddNTP bloque la synthèse du brin.

Séparation par électrophorèse sur gel :

L'électrophorèse sur gel d'agarose (ou sur colonne capillaire) est une méthode utilisée pour séparer les acides nucléiques en fonction de leur masse moléculaire. Les échantillons d'ADN sont déposés à une extrémité d'une matrice de gel et un courant électrique est appliqué ; l'ADN étant chargé négativement, ces acides nucléiques sont attirés vers l'électrode positive (anode) située à l'autre extrémité du gel. Sachant que tous les fragments d'ADN ont la même charge par unité de masse, dans un type de gel donné, la vitesse à laquelle ils se déplacent est uniquement déterminée par leur taille (plus un fragment est petit, plus sa vitesse de migration est grande). Ainsi, les brins les plus courts sont lus en premier.

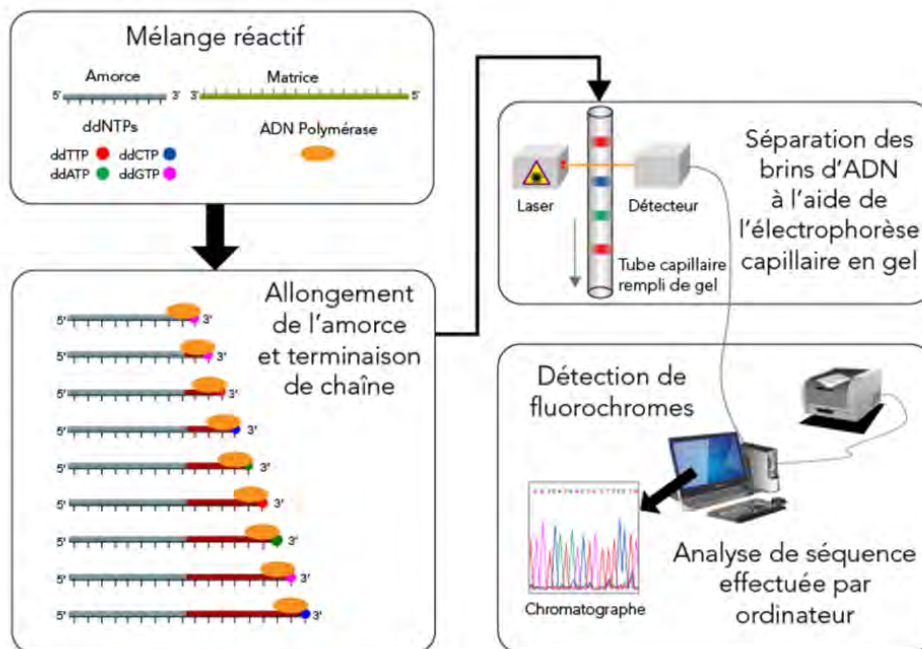


Figure 32 : Représentation schématique du séquençage Sanger (image d'Estevezj, <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sanger-sequencing.svg>)

Lecture de la séquence :

La dernière étape du séquençage consiste à « lire le gel » pour identifier la séquence d'ADN de départ, c'est-à-dire à identifier quel ddNTP est incorporé à l'extrémité 3' de chaque brin synthétisé. Un détecteur analyse la fluorescence émise pour déterminer l'identité de chaque ddNTP terminal, chacun des quatre ddNTP comportant un marqueur fluorescent différent. Le

résultat obtenu est un chromatogramme faisant apparaître le pic de fluorescence de chaque nucléotide le long de l'ADN.

2. Méthode de séquençage des transcrits

2.1. Extraction des ARN et amplification des ADNc

Les ARN ont été extraits à partir d'un échantillon de sang recueilli sur tube PaxGene (dans des conditions de conservation des ARN), grâce à une méthode utilisant le kit commercialisé par Qiagen (kit PaxGene blood RNA). Les ARN ont ensuite été convertis en ADNc en présence d'une rétrotranscriptase (RT) selon le kit fourni par Life Technologies (High capacity cDNA reverse transcriptase kit). Ces ADNc ont été amplifiés par PCR en utilisant des amorces spécifiques des séquences codantes du gène *GLB1* ou du gène *GAPDH* (utilisé ici comme témoin).

3. Résultats

3.1. Étude de l'ADN génomique

L'analyse par séquençage Sanger de l'ADN isolé à partir des leucocytes du patient a permis d'identifier un nouveau variant (c.1143+2T>C) qui est le remplacement d'un nucléotide au tout début de l'intron 11 (plus précisément 2 bases après la fin de l'exon 11) du gène *GLB1* (Figure 33).

Aucune donnée concernant la fréquence allélique de ce variant n'a été trouvées (en interrogeant les outils tels que Alamut - gnomAD).

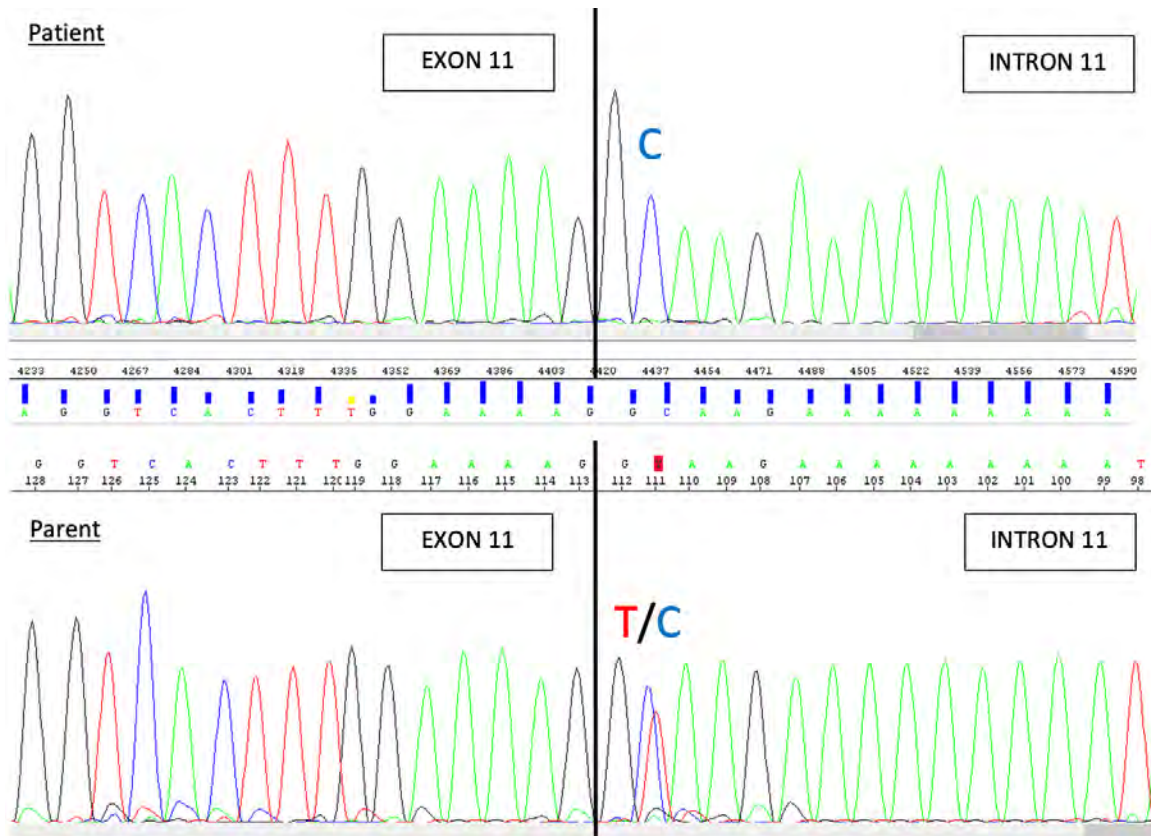


Figure 33 : Séquence de l'extrémité 3' de l'exon 11 du gène *GLB1* chez notre patient et ses parents. En haut, séquence obtenue pour le patient ; en bas, séquence obtenue pour un de ses parents (après séquençage Sanger de l'ADN génomique). En position +2 à la fin de l'exon 11, le patient porte à l'état homozygote un C alors que ses parents sont hétérozygotes pour ce variant.

Au vu de son siège, cette variation peut altérer l'épissage du transcrit primaire : en effet plusieurs déterminants de séquences sont reconnus par la machinerie d'épissage. Il s'agit des sites donneurs (composés de la séquence GU) et accepteurs (composés de la séquence AG) respectivement en 5' et 3' des introns, du site de polypyrimidine (Y)_n vers l'extrémité 3' de l'intron et du point de branchement⁶². Les ribonucléoprotéines du spliceosome (RNPs) vont reconnaître ces différentes séquences pour assurer l'épissage de l'intron (Figure 34).

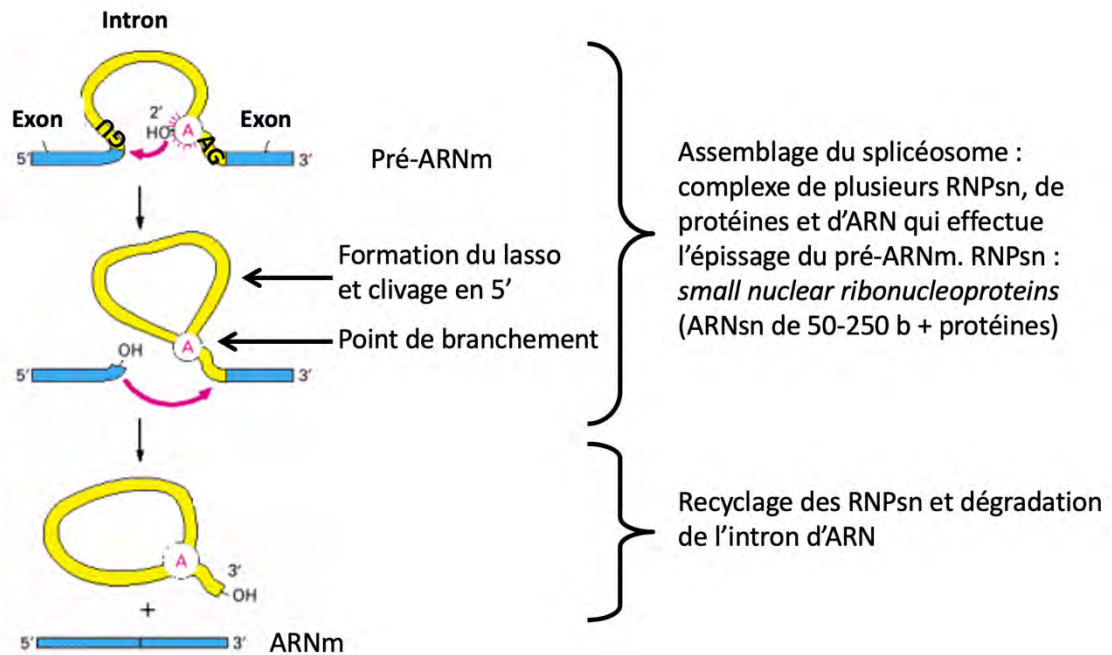


Figure 34 : Représentation schématique de l'épissage des pré-ARNm chez les eucaryotes

Les mutations des sites d'épissage sont des causes fréquentes de maladies génétiques. Celles qui sont caractérisées portent souvent sur les sites donneurs et accepteurs des introns. Cela conduit à des anomalies de l'épissage :

- Rétention totale ou partielle d'un intron qui conduit au maintien ou à la rupture du cadre de lecture
- Perte (excision) d'une partie d'exon ou d'un exon entier
- Déstabilisation des transcrits

La mutation que nous avons identifiée se situant au tout début de l'intron 11, nous avons souhaité explorer ses conséquences sur l'épissage du gène *GLB1*.

3.2. Contribution des outils de prédiction

Nous avons utilisé le logiciel de prédiction Human Splicing Finder (HSF Pro system) pour analyser la séquence du gène *GLB1* (Figure 35). Sur cette image est représenté le site donneur naturel de l'exon 11.



Figure 35 : Analyse des sites d'épissage sur la séquence normale de l'exon 11 du gène *GLB1*, et de la jonction exon-intron 11 selon le logiciel de prédiction Human Splicing Finder. La séquence de l'exon 11 est surlignée en gris. Points verts pleins = sites donneurs, **point vert vide = site donneur naturel**, points rouges pleins = sites accepteurs, point rouge vide = site accepteur naturel.

Nous avons ensuite soumis au logiciel la séquence de *GLB1* porteuse de la variation c.1143+2T>C. On constate (encadré rouge, Figure 36) que la variation induirait la suppression du site donneur, sa séquence consensus étant perdue. Le logiciel prédit donc une altération de l'épissage.

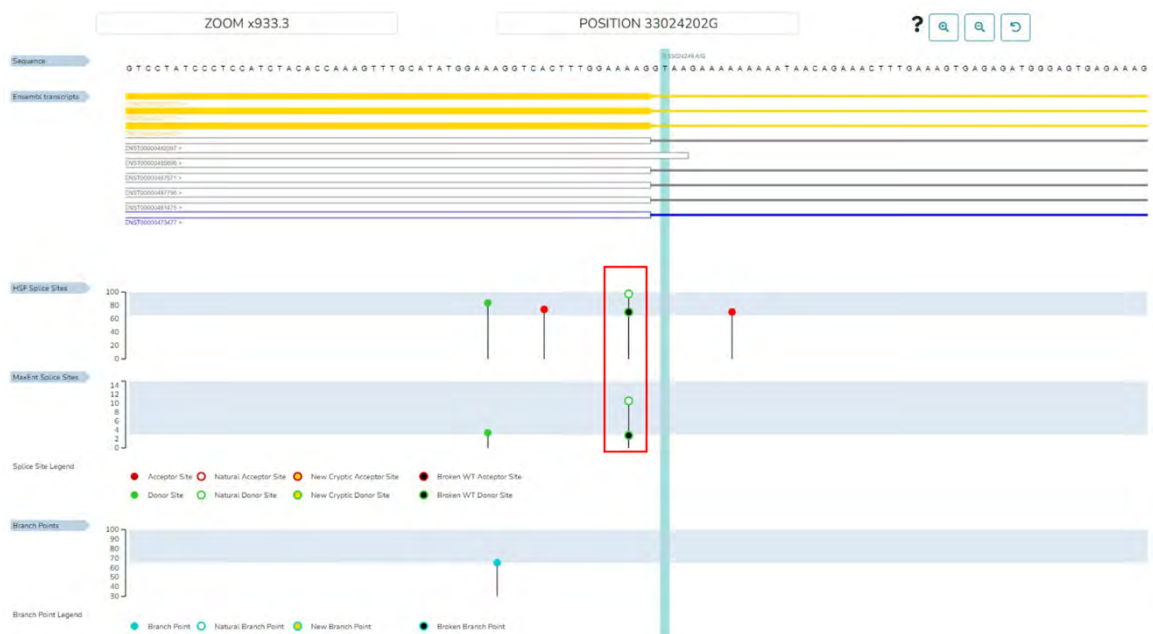


Figure 36 : Analyse des sites d'épissage sur la séquence de *GLB1* portant la variation c.1143+2T>C, et de la jonction exon-intron 11 selon le logiciel de prédiction Human Splicing Finder. Point vert et noir (encadré rouge) = cassure du site donneur naturel

3.3. Étude des transcrits

3.3.1. Analyse sur gel d'électrophorèse

Pour vérifier que la RT-PCR a bien fonctionné, on effectue une amplification de la séquence de *GAPDH* (gène de référence) ; ce témoin montre la présence d'ADN complémentaire. En parallèle, le témoin H₂O montre l'absence de contamination et l'amplification d'un échantillon de patients autres que celui étudié ici permet d'analyser et séquencer l'amplicon portant la séquence sauvage.

Dans l'expérience présentée ici (Figure 37), des amorces pour amplifier l'exon 11 ont été utilisées, une située à la fin de l'exon 10 et l'autre environ au milieu de l'exon 12. Concernant notre patient, on constate une différence significative dans la taille de l'amplicon obtenu. Notons aussi qu'une seule bande est observée. Le transcrite du gène *GLB1* est donc présent, unique mais de taille anormale (réduite). Cette différence de taille (de plus de 50 pb) indique la présence d'une excision par rapport à la séquence normale. Le séquençage va déterminer précisément la région délétée.

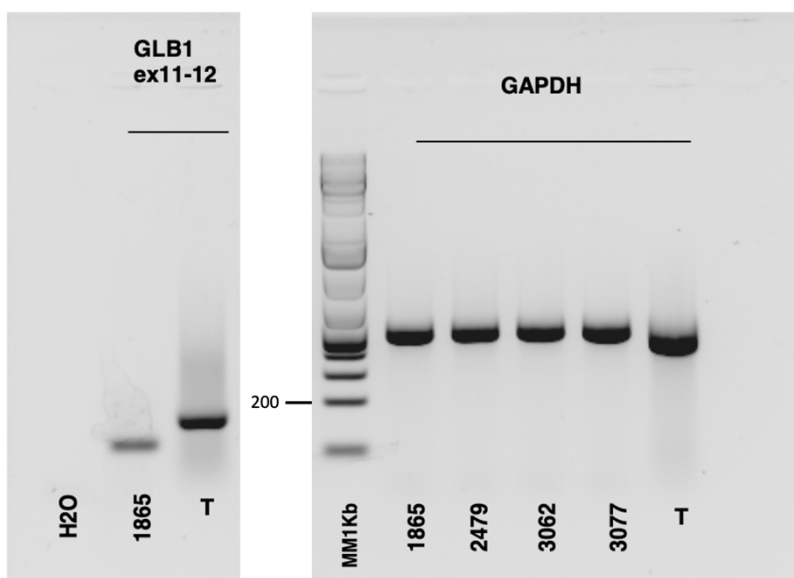


Figure 37 : Analyse sur gel d'électrophorèse des produits d'amplification (RT-PCR) obtenus à partir des ARN extraits d'un tube de sang. A gauche : amplicons obtenus avec les amorces pour l'ADNc de *GLB1* (amorce 11Fter 5'- GCTCTGCGAAACATCATCCAG -3' et amorce 12Rter 5'- AAAGGCTTTTGATGGGCCCA -3'). A droite : amplicons obtenus avec les amorces pour l'ADNc d'un gène de ménage *GAPDH*. MM1KB : marqueur de taille, 1865 : notre patient, T : témoin, 2479/3062/3077 : autres patients.

3.3.2. Séquence des ADNc

Par rapport à la séquence témoin de l'ADNc de *GLB1*, qui comporte bien les 3 exons 10, 11 (Figure 38A) et 12 (non montré) à la suite, la séquence du patient montre la juxtaposition exacte des exons 10 et 12, et donc l'excision complète de l'exon 11 (Figure 38B).

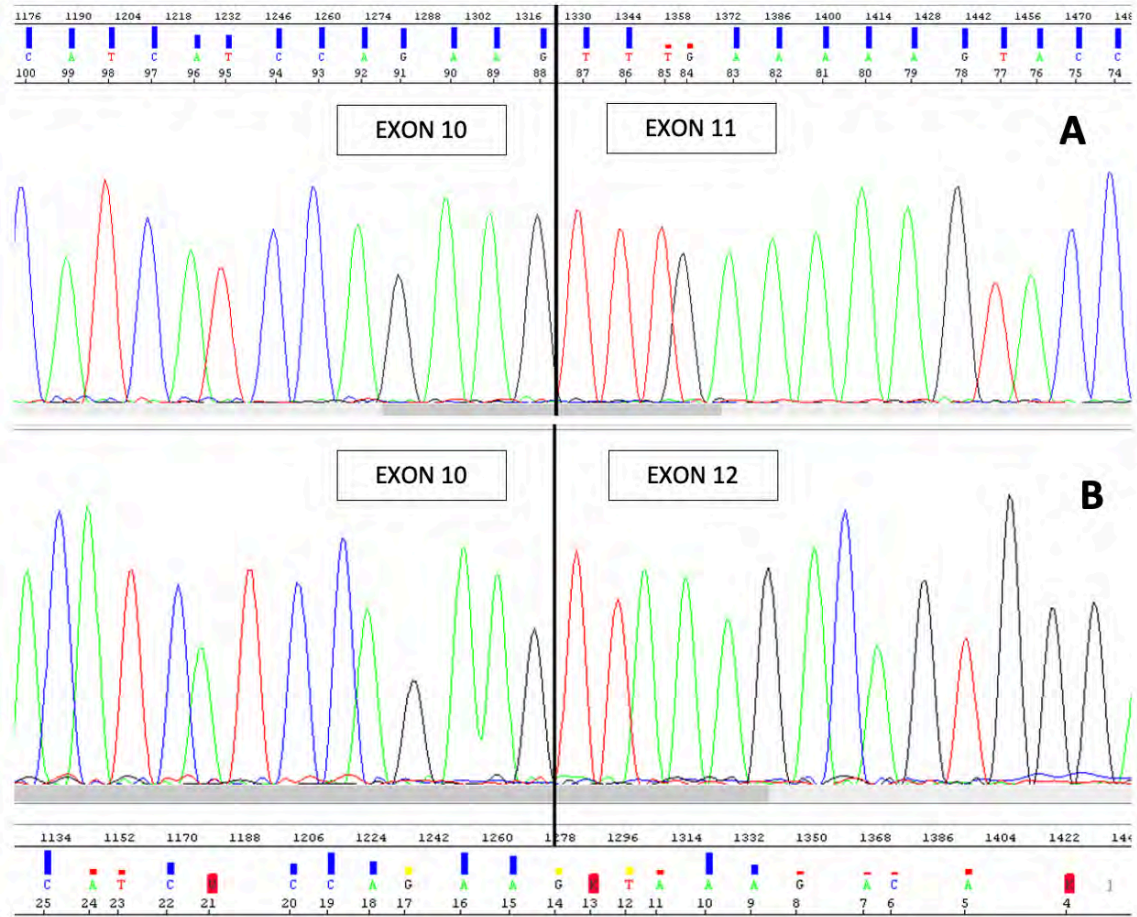


Figure 38 : Séquence des ADNc de *GLB1* obtenus pour un témoin et notre patient. Les amplicons obtenus dans la figure 37 (gel) ont été séquencés selon la méthode Sanger. (A) séquence de l'ADNc témoin, (B) séquence de l'ADNc du patient (seules les séquences centrées sur l'extrémité 3' de l'exon 10 sont montrées).

Il se trouve que l'excision complète de l'exon 11 ne décale pas le cadre de lecture ; la séquence se poursuit avec tous les acides aminés de l'exon 12 (Figure 39) entraînant une protéine tronquée de 25 acides aminés. Cette région manquante de la protéine correspond quasiment au domaine de la boucle TIM β 1 (résidus 359-397).³⁷

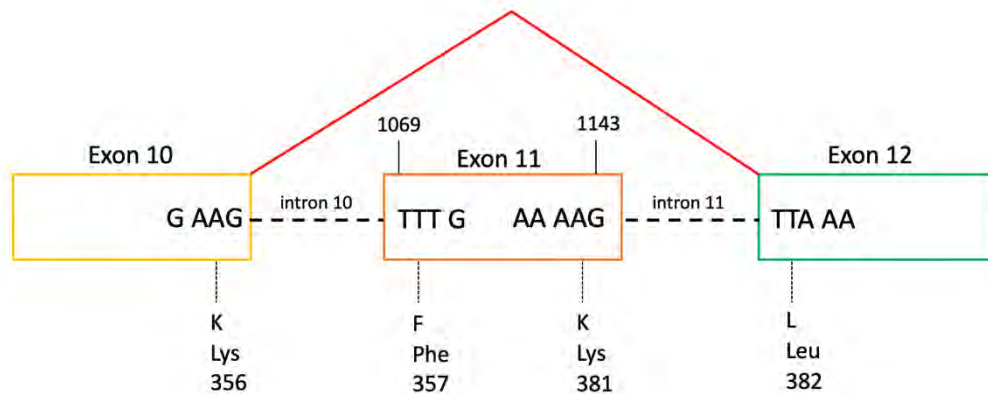


Figure 39 : Représentation schématique de l'excision de l'exon 11 chez le patient. Le schéma indique les séquences nucléotidiques et peptidiques codées par les exons 10 à 12. Le trait rouge montre comment le transcrit primaire de *GLB1* est anormalement épissé chez notre patient.

VII. DISCUSSION ET CONCLUSION

Nous rapportons le cas d'un jeune patient atteint d'une forme singulière de GM1 gangliosidose, une maladie de surcharge lysosomale. Pour ce patient, les examens biologiques ont montré une oligosaccharidurie caractéristique accompagnée d'un déficit de l'activité de la β -galactosidase acide et associée à une homozygotie pour une variation rare, non décrite du gène *GLB1* (c.1143+2T>C).

L'originalité de ce cas nous semble être double : à la fois en raison de sa présentation clinique, tardive et atténuée, et de ses bases moléculaires. Nous allons discuter ces deux aspects en détail.

A. Présentation clinique

Cliniquement, l'histoire de notre patient est assez pauvre et sa présentation peu symptomatique contrairement à la plupart des cas décrits dans la littérature, comme le soulignent les données rappelées dans le Tableau 4 ci-dessous.

Symptômes et signes	Type I (infantile)	Type II (IIa infantile tardif et IIb juvénile)	Type III (chronique)	Notre Patient
Atteinte neurologique				
- Age de début	< 6 mois	7 mois – 10 ans	3 ans – 30 ans	7 ans
- Retard développemental	+	+	-	+
- Hypotonie	+	+	-	-
- Spasticité	+	-	-	-
- Régression psychomotrice	+	+	+	-
- Convulsions	+	+	-	-
- Rigidité de décérébration	+	-	-	-
- Trouble langage/écriture	-	+	+	+
- Dystonie	+	+	+	-
- Signes extrapyramidaux	-	+	+	-
- Épilepsie	+/-	+	+	-
Symptômes anténataux				
- Hydrops foetalis / RCIU	+	-	-	-
- Vacuolisation placentaire	+	-	-	-
Atteinte squelettique				
- Troubles de la marche	-	+	+	+
- Dysplasie squelettique	+	+	+	+
- Cyphose	+	+	+	-
- Lordose	+	+	+	+
- Scoliose	-	+	+	+
Dysmorphie faciale	+	+/-	+/-	-
Atteinte digestive				
- Hépatomégalie	+	+/-	+/-	-
- Splénomégalie	+	+/-	+/-	-
Atteinte pulmonaire				
- Pneumopathie restrictive	+	+	+	-
- Dyspnée	+	+	+	-
Atteinte ophtalmologique				
- Macula rouge cerise	+	-	-	-
- Opacité cornéenne	-	+	+/-	-
- Nystagmus	+	+	-	-
- Strabisme	-	+	-	-
- Hypermétropie	-	+/-	-	+
- Atrophie optique	-	+	+	+
- Cécité	+	-	-	-
Atteinte cardiaque				
- Cardiomyopathie	+	+	+/-	-
- Valvulopathies	-	+	+/-	+

Tableau 4 : Résumé des caractéristiques cliniques des différentes formes de GM1 gangliosidose selon la littérature^{31,51,63,64} et celles de notre patient.

Tebani et al.⁵¹ ont étudié 47 patients atteints de GM1 gangliosidose, dont 36 patients ayant un phénotype précoce (premiers symptômes avant l'âge de 2 ans) et 11 patients ayant un phénotype plus tardif (symptômes entre 2 et 25 ans) dont les principaux troubles et signes cliniques étaient : neurologiques, musculo-squelettiques, gastro-intestinaux, visuels, dysmorphie faciale, respiratoires et cardiaques. Une des patientes présentant une GM1 gangliosidose de type III a consulté pour la première fois à l'âge de 25 ans pour des troubles de la marche et des crampes musculaires, un syndrome extrapyramidal gauche avec mouvements dystoniques. A noter que l'histoire de cette patiente était marquée par une dysplasie osseuse compliquée d'ostéonécrose des têtes fémorales depuis l'enfance. Les signes les plus fréquemment retrouvés lors de cette étude étaient le retard développemental global, la détérioration neurologique progressive, l'hypotonie, les déformations squelettiques ainsi que l'hépatosplénomégalie.

Une autre étude française menée par Laur et al.⁶³, sur 61 patients entre 1998 et 2019 (dont 41 de type I, 11 de type IIa, 5 de type IIb et 4 de type III) a montré que l'âge d'apparition des symptômes variait de la période prénatale pour certains patients atteints d'une forme infantile précoce à 16 ans pour un patient atteint de la forme adulte. Pour les patients présentant une GM1 gangliosidose de type I, les premiers symptômes étaient une hypotonie pour plus de la moitié, une dyspnée et un nystagmus. La plupart des patients présentaient également un retard de développement et certains des signes respiratoires avec découverte d'une organomégalie au moment de la consultation. Pour le type IIa, les principaux signes étaient la régression psychomotrice chez 82 % des patients, les convulsions et l'hypotonie. Les symptômes des patients atteints de type IIb étaient plus légers, tels que des difficultés d'élocution, des difficultés scolaires, une régression psychomotrice progressive, et toujours une hypotonie. Le développement psychomoteur a ralenti entre 2 et 3 ans, suivi d'une instabilité de la marche et d'une régression du langage avec perte du langage à 3 ans. Les patients avaient d'abord consulté pour des difficultés d'attention, le développement psychomoteur était initialement normal. Quant au type III c'est le seul ne présentant pas d'hypotonie. L'âge d'apparition des symptômes était compris entre 3 et 5 ans et les patients diagnostiqués après l'âge de 3 ans présentaient une dystonie progressive généralisée, principalement avec une atteinte faciale entraînant des troubles du langage, associée à un syndrome akinéto-rigide parkinsonien. L'espérance de vie était en moyenne de 35 mois pour le type I, 11 ans pour le type IIa, et 34 ans pour les types IIb et III.

Dans un article tout récent, D'Souza et al.⁶⁴ ont quant à eux analysé et suivi sur 10 ans 41 patients atteints de GM1 gangliosidose de type II (17 phénotypes infantiles tardifs et 24 phénotypes juvéniles). Les patients atteints d'un phénotype de type II présentaient une audition normale et n'avaient pas de macula rouge cerise ou d'hépatosplénomégalie importante contrairement aux patients avec un type I. Était notée une stagnation du développement évoluant vers l'ataxie, la dystonie, la dysarthrie et la présence de déformations squelettiques. Les patients avec début infantile présentaient généralement un retard ou une non-acquisition des étapes majeures du développement puis perdaient ensuite les compétences acquises, alors que les phénotypes juvéniles avaient généralement un développement normal suivi d'une régression progressive du développement psychomoteur. Il est retrouvé un strabisme et un nystagmus fréquent pour les formes infantiles alors qu'on note plutôt des opacités cornéennes dans la forme juvénile. A noter une atrophie du nerf optique chez quatre patients infantiles tardifs. Certains des patients avec une forme juvénile ont également développé des valvulopathies. Le test de Vineland (évaluation du comportement adaptatif) a montré chez ces patients une détérioration psychomotrice très rapide, vers 10 ans (Figure 40).

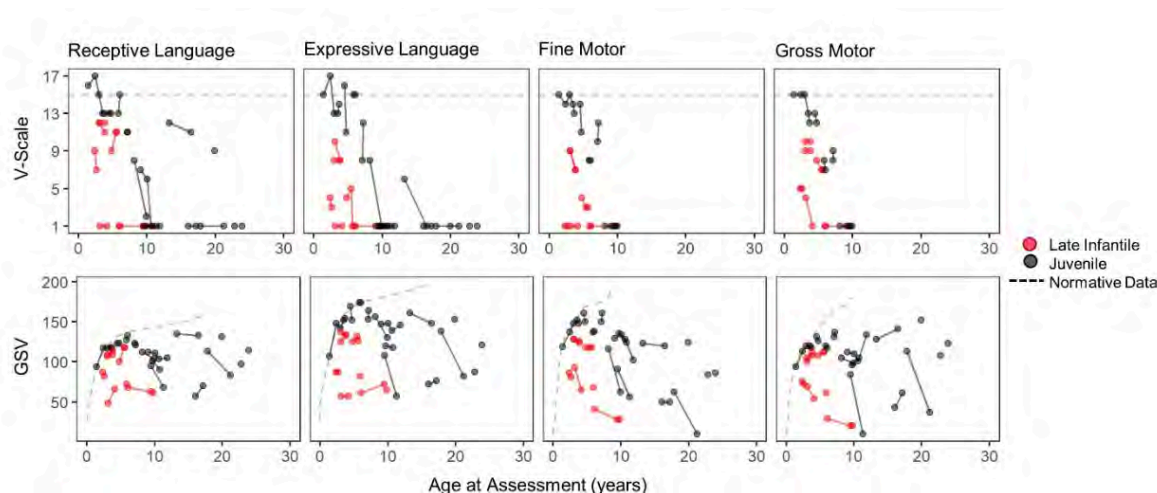


Figure 40 : Évolution des scores de Vineland-3 en fonction de l'âge des patients. En rouge = patients avec une forme infantile tardive, en gris = patients avec une forme juvénile (d'après D'Souza et al. 2024).⁶⁴ Abréviation : GSV : growth scale value.

Ainsi, à l'heure actuelle il semble raisonnable de considérer notre patient comme atteint d'une GM1 gangliosidose de type IIb (juvénile) ou plutôt III comme certains signes du type IIB sont absents. Le suivi clinique et paraclinique (avec test de Vineland) de ce patient et son évolution dans les années futures seront déterminants pour affiner le diagnostic.

B. Aspects moléculaires

La variation identifiée chez notre patient n'a pas (encore) été décrite et n'est pas répertoriée dans les bases telles que HGMD et ClinVar. Sa fréquence allélique n'est pas rapportée non plus. Quant à sa pathogénicité, elle se classe comme « probablement pathogène » selon les logiciels de prédiction (par exemple Varsome ou Mobidetails). Cependant, nous montrons que ce variant, à l'état homoallélique, s'accompagne d'un déficit enzymatique et, point crucial, d'une surcharge métabolique chez le patient (oligosaccharidurie) prouvant un déficit fonctionnel.

Le fait que le patient porte à l'état homozygote le variant c.1143+2T>C (comme l'atteste sa présence à l'état hétérozygote chez chacun de ses parents) est important car les anomalies (moléculaires, fonctionnelles, cliniques) observées peuvent être directement rattachées à ce variant [en postulant qu'aucun autre variant additionnel dans son génome exerce des effets modulateurs].

Nos analyses révèlent que ce défaut génétique sur l'ADN génomique engendre une anomalie de l'épissage, avec une excision de toute la région correspondant à l'exon 11. Comme cette excision ne modifie pas le cadre de lecture, il est probable que le seul transcrit anormal que nous avons identifié à ce jour conduit à la synthèse d'une protéine tronquée de 25 acides aminés (des résidus 357 à 381). Cette protéine tronquée pourrait conserver en partie sa fonction, expliquant l'activité résiduelle (non nulle) de la β -galactosidase que nous avons détectée chez le patient.

Nous rappelons que la β -galactosidase est composée de 3 domaines et s'organise en homodimère³⁷. Les domaines importants incluent le domaine du tonneau TIM (résidus 1 à 359) suivi du domaine 1 (résidus 397 à 514) et du domaine 2 (résidus 545 à 647). Le tonneau TIM est formé de huit brins bêta parallèles et de huit hélices alpha. Il est caractéristique de la famille des glycoside hydrolases. L'agencement crée une structure en forme de tonneau où le brin bêta forme le tonneau intérieur et les hélices alpha englobent l'extérieur. Ce domaine est essentiel à la capacité de l'enzyme à catalyser la réaction et le site actif se trouve principalement ici. La plupart des mutations dans la région centrale de la protéine entraîneraient des effets drastiques sur la structure et la stabilité globales de la protéine, en particulier pour le domaine du tonneau TIM qui est responsable de la catalyse, à l'origine des phénotypes les plus sévères. Alors que les mutations touchant les régions de surface de la protéine conduiraient à des phénotypes atténués.³⁷

L'interface de dimérisation de la protéine serait composée de trois régions dont notamment les résidus 364 à 374 dans la boucle TIM- β 1 (résidus 360 à 396). Cette interface est riche en résidus hydrophobes, en particulier de proline (Pro364, Pro366, Pro367 et Pro370). Ainsi, si la β -galactosidase de notre patient a perdu la région peptidique 357-381, la structuration en dimère ou oligomère pourrait être altérée, affectant sa stabilité ou son trafic vers les lysosomes. Des études *in silico* pourraient permettre de mieux prédire l'impact de la troncation de la protéine sur sa structure.

Pour mieux appréhender le rôle possible de la variation observée chez notre patient, nous avons recherché dans la littérature ou la base ClinVar quel était le phénotype de variants de *GLB1* siégeant au niveau de l'exon 11. Le Tableau 5 répertorie les anomalies retrouvées. Malheureusement, des données manquent, tant sur les caractéristiques de ces variants ou la nature du second allèle que sur la présentation clinique, pour pouvoir comparer à la situation de notre patient.

Il serait intéressant d'analyser la protéine β -galactosidase de notre patient, par exemple par Western blot en conditions natives, pour savoir si l'enzyme mutée existe plutôt sous forme monomérique ou oligomérique. De plus, des expériences d'immunofluorescence avec un anticorps anti- β -galactosidase pourraient nous indiquer si la localisation subcellulaire de l'enzyme mutée est altérée ou pas; en particulier, cette enzyme tronquée peut-elle toujours être adressée aux lysosomes. A ce jour, nous n'avons pas obtenu de matériel biologique du patient pour réaliser ces expériences.

Sachant que ce n'est pas le site catalytique de l'enzyme qui est affecté par la variation c.1143+2T>C, il serait aussi possible d'étudier l'impact de ce variant sur la fonction de la protéine enzymatique en mesurant l'activité enzymatique de la protéine mutante après avoir exprimé dans des cellules un ADNc totalement dépourvu de l'exon 11. Pour ce faire, il faudrait construire d'une part un plasmide codant l'ADNc entier (sauvage) de *GLB1* humain et d'autre part un plasmide codant l'ADNc mutant. Après avoir introduit ces vecteurs, ainsi que le plasmide vide, comme témoin, dans des cellules de mammifères, par exemple des cellules HEK293T ou HeLa, et au bout de 48 ou 72h de culture, nous pourrions mesurer l'activité de la β -galactosidase et analyser la protéine par Western blot. Cette expérience nous permettrait de statuer sur la stabilité (présence d'un dimère ou non) et les capacités catalytiques de la

protéine mutante. Nous pourrions aussi envisager d'exprimer l'ADNc mutant dans des fibroblastes issus de patients atteints d'une forme sévère (type I) de GM1-gangliosidose et voir si l'expression de la protéine mutée permet de restaurer une certaine activité résiduelle.

Allèle 1 séquence nucléotidique	Allèle 1 (protéine)	Allèle 2 séquence nucléotidique	Allèle 2 (protéine)	Pathologie	Phénotype clinique	Référence
c.1071T>G	p.Phe357Leu	c.1325G>A	p.Arg442Gln	Gangliosidose GM1 ?	Adulte Atteintes neurologique + squelettique	Hofer et al. (2010) Clin Genet 78, 236
c.1071delT	p.Phe357LeufsTer26	c.1310delA	p.Asn437MetfsTer24	Gangliosidose GM1	Infantile ?	Caciotti et al. (2011) Biochim Biophys Acta 1812, 782
c.1071_1073delinsGG	p.Phe357LeufsTer26	–	–	Gangliosidose GM1 hétérozygote	Diagnostic prénatal	Verma et al. (2015) Prenat Diagn 35, 1137
c.1077delA	p.Val360TyrfsTer23	c.1325G>A	p.Arg442Gln	Gangliosidose GM1	Adulte Atteintes neurologique + squelettique	Hofer et al. (2010) Clin Genet 78, 236
c.1090C>T	p.Pro364Ser	?	?	Trouble du développement		McRae et al. (2017) Nature 542, 433
c.1103_1267dup	p.Ser368_Tyr422dup ?	c.1103_1267dup	p.Ser368_Tyr422dup ?	Gangliosidose GM1	Infantile	Yoshida et al. (1991) Am J Hum Genet 49, 435
c.1122T>G	p.Tyr374Ter	?	?	Gangliosidose GM1	Hypotonie, facies grossier	ClinVar SCV002817376.1
c.1122T>A	p.Tyr374Ter	?	?	?	?	ClinVar SCV002604350.2
c.1131_1143+2del	p.?	c.1131_1143+2del	p.?	Gangliosidose GM1	Infantile Hépatosplénomégalie Retard psychomoteur, atteinte cardiaque	Santamaria et al. (2007) Clin Genet 71, 273
c.1142del	p.Lys381SerfsTer2	?	?	?	?	ClinVar SCV002602237.2 et SCV002231862.3

Tableau 5 : Phénotypes associés aux variants de *GLB1* siégeant au niveau de l'exon 11, d'après les données de la base HGMD et de ClinVar (les variants sont numérotés selon le NM_000404.4).

Une autre hypothèse pour expliquer la forme modérée de GM1 gangliosidose de notre patient est qu'il existe en faible quantité un transcrit normal, qui résulterait d'un épissage normal (mais minoritaire) malgré la variation. Pour tester cette hypothèse, une expérience en cours consiste à réaliser une RT-PCR en utilisant des amorces positionnées délibérément au niveau de l'exon 11. Si un transcrit contenant l'exon 11 est présent, un amplicon devrait être obtenu, dont on vérifiera la séquence. La présence de ce transcrit normal en petite quantité pourrait aussi expliquer une activité enzymatique résiduelle.

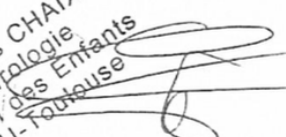
Une retombée potentielle de ces investigations, si elles démontraient chez notre patient l'existence d'une protéine mutée relativement stable, serait d'envisager un traitement par chaperon pharmacologique afin d'améliorer la configuration tridimensionnelle de l'enzyme pour en accroître ses capacités catalytiques dans le lysosome.

Vu et permis d'imprimer,
À Toulouse, le 05/06/2024

La Présidente de l'Université Toulouse III - Paul Sabatier
Faculté de Santé
Par délégation, le Doyen - Directeur du Département de
Médecine, Maïeutique et Paramédical
Pr Thomas GEERAERS



Président du jury
Pr Yves CHAIX
Neurologie
Hôpital des Enfants
CHU - Toulouse



VIII. BIBLIOGRAPHIE

1. Luzio, J. P. *et al.* Lysosome-endosome fusion and lysosome biogenesis. *J Cell Sci* **113 (Pt 9)**, 1515–24 (2000).
2. THÈSE Pour Obtenir Le Diplôme de Doctorat Présentée et Soutenue Par Lénaïg ABILY-DONVAL.
3. Perera, R. M. & Zoncu, R. The Lysosome as a Regulatory Hub. *Annu Rev Cell Dev Biol* **32**, 223–253 (2016).
4. Yang, C. & Wang, X. Lysosome biogenesis: Regulation and functions. *J Cell Biol* **220**, (2021).
5. Udayar, V., Chen, Y., Sidransky, E. & Jagasia, R. Lysosomal dysfunction in neurodegeneration: emerging concepts and methods. *Trends Neurosci* **45**, 184–199 (2022).
6. Xu, H. & Ren, D. Lysosomal physiology. *Annu Rev Physiol* **77**, 57–80 (2015).
7. Okada, S. [Lysosomal storage disease]. *Nihon Rinsho* **53**, 2911–4 (1995).
8. Ballabio, A. & Gieselmann, V. Lysosomal disorders: from storage to cellular damage. *Biochim Biophys Acta* **1793**, 684–96 (2009).
9. Bajaj, L. *et al.* Lysosome biogenesis in health and disease. *J Neurochem* **148**, 573–589 (2019).
10. Lamming, D. W. & Bar-Peled, L. Lysosome: The metabolic signaling hub. *Traffic* **20**, 27–38 (2019).
11. Parkinson-Lawrence, E. J. *et al.* Lysosomal storage disease: revealing lysosomal function and physiology. *Physiology (Bethesda)* **25**, 102–15 (2010).
12. Staudt, C., Puissant, E. & Boonen, M. Subcellular Trafficking of Mammalian Lysosomal Proteins: An Extended View. *Int J Mol Sci* **18**, (2016).
13. Kudo, M., Brem, M. S. & Canfield, W. M. Mucopolipidosis II (I-cell disease) and mucopolipidosis IIIA (classical pseudo-hurler polydystrophy) are caused by mutations in the GlcNAc-phosphotransferase alpha / beta -subunits precursor gene. *Am J Hum Genet* **78**, 451–63 (2006).
14. Lefrancois, S., Zeng, J., Hassan, A. J., Canuel, M. & Morales, C. R. The lysosomal trafficking of sphingolipid activator proteins (SAPs) is mediated by sortilin. *EMBO J* **22**, 6430–7 (2003).
15. Blanz, J. *et al.* Mannose 6-phosphate-independent Lysosomal Sorting of LIMP-2. *Traffic* **16**, 1127–1136 (2015).
16. Ghosh, P., Griffith, J., Geuze, H. J. & Kornfeld, S. Mammalian GGAs act together to sort mannose 6-phosphate receptors. *J Cell Biol* **163**, 755–66 (2003).
17. Eskelinen, E.-L. Roles of LAMP-1 and LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Mol Aspects Med* **27**, 495–502 (2006).
18. Kuk, M. U. *et al.* Potential Treatment of Lysosomal Storage Disease through Modulation of the Mitochondrial-Lysosomal Axis. *Cells* **10**, (2021).
19. Przybilla, M. J. *et al.* Comprehensive behavioral and biochemical outcomes of novel murine models of GM1-gangliosidosis and Morquio syndrome type B. *Mol Genet Metab* **126**, 139–150 (2019).
20. Farré, J.-C. & Subramani, S. Peroxisome turnover by micropexophagy: an autophagy-related process. *Trends Cell Biol* **14**, 515–23 (2004).
21. Nicoli, E.-R. *et al.* GM1 Gangliosidosis-A Mini-Review. *Front Genet* **12**, 734878 (2021).

22. Rha, A. K., Maguire, A. S. & Martin, D. R. GM1 Gangliosidosis: Mechanisms and Management. *Appl Clin Genet* **14**, 209–233 (2021).
23. Regier, D. S., Proia, R. L., D’Azzo, A. & Tifft, C. J. The GM1 and GM2 Gangliosidoses: Natural History and Progress toward Therapy. *Pediatr Endocrinol Rev* **13 Suppl 1**, 663–73 (2016).
24. Piechnik, M. *et al.* Sex Difference Leads to Differential Gene Expression Patterns and Therapeutic Efficacy in Mucopolysaccharidosis IVA Murine Model Receiving AAV8 Gene Therapy. *Int J Mol Sci* **23**, (2022).
25. Kolter, T. Ganglioside Biochemistry. *ISRN Biochem* **2012**, 1–36 (2012).
26. Brunetti-Pierri, N. & Scaglia, F. GM1 gangliosidosis: review of clinical, molecular, and therapeutic aspects. *Mol Genet Metab* **94**, 391–396 (2008).
27. Lang, F. M., Korner, P., Harnett, M., Karunakara, A. & Tifft, C. J. The natural history of Type 1 infantile GM1 gangliosidosis: A literature-based meta-analysis. *Mol Genet Metab* **129**, 228–235 (2020).
28. Pedersen, J. J. *et al.* β -Galactosidase deficiency in the GLB1 spectrum of lysosomal storage disease can present with severe muscle weakness and atrophy. *JIMD Rep* **63**, 540–545 (2022).
29. Caciotti, A. *et al.* GM1 gangliosidosis and Morquio B disease: An update on genetic alterations and clinical findings. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* **1812**, 782–790 (2011).
30. Laur, D. *et al.* Natural history of GM1 gangliosidosis—Retrospective cohort study of 61 French patients from 1998 to 2019. *J Inherit Metab Dis* **46**, 972–981 (2023).
31. Regier, D. S., Tifft, C. J. & Rothermel, C. E. *GLB1-Related Disorders*. (1993).
32. Karimzadeh, P. *et al.* Case reports of juvenile GM1 gangliosidosis type II caused by mutation in GLB1 gene. *BMC Med Genet* **18**, (2017).
33. Sandhoff, K. & Harzer, K. Gangliosides and gangliosidoses: Principles of molecular and metabolic pathogenesis. *Journal of Neuroscience* **33**, 10195–10208 (2013).
34. Sipione, S., Monyor, J., Galleguillos, D., Steinberg, N. & Kadam, V. Gangliosides in the Brain: Physiology, Pathophysiology and Therapeutic Applications. *Front Neurosci* **14**, 572965 (2020).
35. Hofer, D. *et al.* Phenotype determining alleles in GM1 gangliosidosis patients bearing novel GLB1 mutations. *Clin Genet* **78**, 236–246 (2010).
36. Allende, M. L. *et al.* Sialidase NEU3 action on GM1 ganglioside is neuroprotective in GM1 gangliosidosis. *J Lipid Res* **64**, (2023).
37. Ohto, U. *et al.* Crystal structure of human β -galactosidase: structural basis of Gm1 gangliosidosis and morquio B diseases. *J Biol Chem* **287**, 1801–12 (2012).
38. Lee, B. Y. *et al.* Senescence-associated β -galactosidase is lysosomal β -galactosidase. *Aging Cell* **5**, 187–195 (2006).
39. Morita, M. *et al.* Structural bases of GM1 gangliosidosis and Morquio B disease. *J Hum Genet* **54**, 510–515 (2009).
40. D’Agrosa, R. M., Hubbes, M., Zhang, S., Shankaran, R. & Callahan, J. W. Characteristics of the beta-galactosidase-carboxypeptidase complex in GM1-gangliosidosis and beta-galactosialidosis fibroblasts. *Biochem J* **285 (Pt 3)**, 833–8 (1992).
41. Santamaria, R., Chabás, A., Callahan, J. W., Grinberg, D. & Vilageliu, L. Expression and characterization of 14 GLB1 mutant alleles found in GM1-gangliosidosis and Morquio B patients. *J Lipid Res* **48**, 2275–2282 (2007).

42. Privitera, S., Prody, C. A., Callahan, J. W. & Hinek, A. The 67-kDa enzymatically inactive alternatively spliced variant of beta-galactosidase is identical to the elastin/laminin-binding protein. *J Biol Chem* **273**, 6319–26 (1998).
43. Weesner, J. A. *et al.* Altered GM1 catabolism affects NMDAR-mediated Ca²⁺ signaling at ER-PM junctions and increases synaptic spine formation in a GM1-gangliosidosis model. *Cell Rep* **43**, (2024).
44. Muthane, U. *et al.* Clinical features of adult GM1 gangliosidosis: report of three Indian patients and review of 40 cases. *Mov Disord* **19**, 1334–41 (2004).
45. Caciotti, A. *et al.* Modulating action of the new polymorphism L436F detected in the GLB1 gene of a type-II GM1 gangliosidosis patient. *Hum Genet* **113**, 44–50 (2003).
46. Guertl, B., Noehammer, C. & Hoefler, G. Metabolic cardiomyopathies. *Int J Exp Pathol* **81**, 349–72 (2000).
47. Santamaria, R., Blanco, M., Chabás, A., Grinberg, D. & Vilageliu, L. Identification of 14 novel GLB1 mutations, including five deletions, in 19 patients with GM1 gangliosidosis from South America. *Clin Genet* **71**, 273–279 (2007).
48. Callahan, J. W. Molecular basis of GM1 gangliosidosis and Morquio disease, type B. Structure-function studies of lysosomal beta-galactosidase and the non-lysosomal beta-galactosidase-like protein. *Biochim Biophys Acta* **1455**, 85–103 (1999).
49. Abumansour, I. S., Yuskiv, N., Paschke, E. & Stockler-Ipsiroglu, S. Morquio-B disease: Clinical and genetic characteristics of a distinct GLB1-related dysostosis multiplex. *JIMD Rep* **51**, 30–44 (2020).
50. Yuskiv, N., Higaki, K. & Stockler-Ipsiroglu, S. Morquio B Disease. Disease Characteristics and Treatment Options of a Distinct GLB1-Related Dysostosis Multiplex. *Int J Mol Sci* **21**, (2020).
51. Tebani, A. *et al.* Disentangling molecular and clinical stratification patterns in beta-galactosidase deficiency. *J Med Genet* **59**, 377–384 (2022).
52. Foster, D., Williams, L., Arnold, N. & Larsen, J. Therapeutic developments for neurodegenerative GM1 gangliosidosis. *Front Neurosci* **18**, (2024).
53. Przybilla, M. J. *et al.* Examination of a blood-brain barrier targeting β -galactosidase-monoclonal antibody fusion protein in a murine model of GM1-gangliosidosis. *Mol Genet Metab Rep* **27**, 100748 (2021).
54. Takai, T. *et al.* A bicyclic 1-deoxygalactonojirimycin derivative as a novel pharmacological chaperone for GM1 gangliosidosis. *Mol Ther* **21**, 526–32 (2013).
55. Martin, D., Haack, K., Niemeyer, G. & Cox, N. Treatment of Feline GM1 Gangliosidosis with Mesenchymal Stem Cells and Lentiviral Gene Therapy. *Molecular Therapy* **11**, S372 (2005).
56. Gray-Edwards, H. L. *et al.* Lipidomic Evaluation of Feline Neurologic Disease after AAV Gene Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev* **6**, 135–142 (2017).
57. Bychkov, I. *et al.* Processed pseudogene insertion in GLB1 causes Morquio B disease by altering intronic splicing regulatory landscape. *NPJ Genom Med* **7**, (2022).
58. Shimada, T. *et al.* Di-sulfated Keratan Sulfate as a Novel Biomarker for Mucopolysaccharidosis II, IVA, and IVB. *JIMD Rep* **21**, 1–13 (2015).

59. Padash, S. *et al.* A pictorial review of the radiographic skeletal findings in Morquio syndrome (mucopolysaccharidosis type IV). *Pediatr Radiol* **53**, 971–983 (2023).
60. Humbel, R. & Collart, M. Oligosaccharides in urine of patients with glycoprotein storage diseases. I. Rapid detection by thin-layer chromatography. *Clin Chim Acta* **60**, 143–5 (1975).
61. Piraud, M. *et al.* Development of a new tandem mass spectrometry method for urine and amniotic fluid screening of oligosaccharidoses. *Rapid Commun Mass Spectrom* **31**, 951–963 (2017).
62. Dujardin, G. *et al.* L'épissage des ARN pré-messagers : quand le splicéosome perd pied. *médecine/sciences* **32**, 1103–1110 (2016).
63. Laur, D. *et al.* Natural history of GM1 gangliosidosis—Retrospective cohort study of 61 French patients from 1998 to 2019. *J Inherit Metab Dis* **46**, 972–981 (2023).
64. D'Souza, P. *et al.* GM1 Gangliosidosis Type II: Results of a 10-Year Prospective Study. *Genet Med* 101144 (2024) doi:10.1016/j.gim.2024.101144.
65. Eskelinen, E.-L., Tanaka, Y. & Saftig, P. At the acidic edge: emerging functions for lysosomal membrane proteins. *Trends Cell Biol* **13**, 137–45 (2003).
66. Cutillo, G., Saariaho, A.-H. & Meri, S. Physiology of gangliosides and the role of antiganglioside antibodies in human diseases. *Cell Mol Immunol* **17**, 313–322 (2020).
67. Mehta, A. B. & Winchester, B. *Lysosomal Storage Disorders*. (Wiley, 2022). doi:10.1002/9781119697312.

GM1-GANGLIOSIDOSE : EXPLORATIONS BIOLOGIQUES D'UN CAS ET REVUE DE LA LITTÉRATURE

La GM1-gangliosidose est une maladie de surcharge lysosomale due au déficit de l'activité de la β -galactosidase acide codée par le gène *GLB1*. Cette maladie métabolique, de transmission autosomique récessive, se caractérise par un défaut de la dégradation lysosomale et l'accumulation de divers substrats de la β -galactosidase dont le ganglioside GM1. Cliniquement, la caractéristique principale de la gangliosidose GM1 est la neurodégénérescence progressive et comprend des phénotypes allant de légers à graves selon la quantité d'activité enzymatique résiduelle déterminée par les mutations spécifiques de *GLB1*. Tandis que les formes les plus sévères de la maladie se présentent par un début avant l'âge de 6 mois-1 an, avec parfois des symptômes en période anténatale, une dysfonction neurologique sévère et une régression rapide du développement psychomoteur, les formes atténuées affectent l'enfant ou l'adolescent, avec un retard développemental moteur et cognitif plus progressif associé à une dysplasie squelettique.

Nous rapportons le cas d'un jeune patient, né en 2011, atteint d'une forme singulière de GM1 gangliosidose. Pour ce patient, les examens biologiques ont montré une oligosaccharidurie caractéristique accompagnée d'un déficit de l'activité de la β -galactosidase acide et associée à une homozygotie pour une variation rare, non décrite du gène *GLB1* (c.1143+2T>C). Après avoir détaillé l'histoire clinique et la présentation de notre patient et décrit la GM1 gangliosidose, nous détaillons les investigations biochimiques et moléculaires menées sur des échantillons de ce patient. L'originalité de ce cas nous semble être double : à la fois en raison de sa présentation clinique tardive et atténuée et de ses bases génétiques.

TITRE EN ANGLAIS : GM1-GANGLIOSIDOSIS: BIOLOGICAL INVESTIGATIONS OF A CASE AND LITERATURE REVIEW

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Médecine spécialisée biologie médicale

MOTS-CLÉS : GM1 gangliosidose, lysosome, β -galactosidase, épissage, neuropilidose, maladie de surcharge

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de Santé de Toulouse
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Pr Thierry LEVADE