

**Université de POITIERS**

**Faculté de Médecine et de Pharmacie**

**ANNEE 2014**

**Thèse n°**

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
(arrêté du 17 juillet 1987)

présentée et soutenue publiquement  
le 8 décembre 2014 à POITIERS  
par Mademoiselle SIBELET Marie  
née le 12 avril 1989

Maladie de Fabry : Aspects clinique, biologique et thérapeutique

Composition du jury :

Président : Monsieur le Professeur GUILLARD Jérôme, Professeur de Pharmaco chimie

Membres : Madame RIOUX BILAN Agnès, Maître de conférences en biochimie  
Madame MAGNAM Joëlle, Docteur en pharmacie, Praticien hospitalier  
Madame DUBREUIL Véronique, Docteur en pharmacie, Pharmacien d'officine

Directeur de thèse : Madame RIOUX BILAN Agnès, Maître de conférences en biochimie



**PHARMACIE**

**Professeurs**

- CARATO Pascal, Chimie Thérapeutique
- COUET William, Pharmacie Clinique
- FAUCONNEAU Bernard, Toxicologie
- GUILLARD Jérôme, Pharmaco chimie
- IMBERT Christine, Parasitologie
- MARCHAND Sandrine, Pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, Galénique
- PAGE Guylène, Biologie Cellulaire
- RABOUAN Sylvie, Chimie Physique, Chimie Analytique
- SARROUILHE Denis, Physiologie
- SEGUIN François, Biophysique, Biomathématiques

**Maîtres de Conférences**

- BARRA Anne, Immunologie-Hématologie
- BARRIER Laurence, Biochimie
- BODET Charles, Bactériologie
- BON Delphine, Biophysique
- BRILLAULT Julien, Pharmacologie
- CHARVET Caroline, Physiologie
- DEBORDE Marie, Sciences Physico-Chimiques
- DEJEAN Catherine, Pharmacologie
- DELAGE Jacques, Biomathématiques, Biophysique
- DUPUIS Antoine, Pharmacie Clinique
- FAVOT Laure, Biologie Cellulaire et Moléculaire
- GIRARDOT Marion, pharmacognosie, botanique, biodiversité végétale
- GREGOIRE Nicolas, Pharmacologie
- GRIGNON Claire, PH
- HUSSAIN Didja, Pharmacie Galénique
- INGRAND Sabrina, Toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile Pharmaco chimie

- PAIN Stéphanie, Toxicologie
- RAGOT Stéphanie, Santé Publique
- RIOUX BILAN Agnès, Biochimie
- TEWES Frédéric, Chimie et Pharmaco chimie
- THEVENOT Sarah, Hygiène et Santé publique
- THOREAU Vincent, Biologie Cellulaire
- WAHL Anne, Chimie Analytique

**PAST - Maître de Conférences Associé**

- DELOFFRE Clément, Pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, Pharmacien

**Professeur 2<sup>nd</sup> degré**

- DEBAIL Didier

**Maître de Langue - Anglais**

- PERKINS Marguerite,

## Remerciements

A mon président de thèse, Monsieur Jérôme Guillard, Professeur de Pharmaco-chimie,  
Pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

A ma directrice de thèse, Madame Agnès Rioux Bilan, Maître de conférences en biochimie,  
Pour avoir accepté de diriger ce travail, pour votre professionnalisme, votre patience et votre gentillesse à mon égard, je vous adresse mes sincères remerciements.

A Madame Joëlle Magnam, Docteur en pharmacie, praticien hospitalier,  
Pour avoir accepté de siéger parmi les membres du jury, veuillez accepter l'expression de ma sincère reconnaissance.

A Madame Véronique Dubreuil, Docteur en pharmacie, pharmacien d'officine,  
Pour l'honneur que tu me fais de siéger parmi les membres du jury, pour tes conseils avisés lors de mon stage professionnel, pour ta gentillesse et ton amitié, je t'adresse mes sincères remerciements.

Mes remerciements s'adressent également à tous les pharmaciens d'officine dont j'ai pu croiser la route au cours de ma scolarité et qui ont participé à ma formation en partageant leur savoir et en m'accordant leur confiance. Je vous prie de croire à ma profonde gratitude.  
A Monsieur et Madame Lassime, pharmaciens titulaires d'officine à Saint Amant de Boixe.  
A Monsieur Ensergueix, pharmacien titulaire d'officine à Mansle.  
A Monsieur Robine, pharmacien titulaire d'officine à Blanquefort.

Je remercie les pharmaciens adjoints, préparateurs et préparatrices qui m'ont épaulée, conseillée et qui pour certains sont devenus des amis. Merci pour votre bonne humeur et votre soutien.

Merci à Eulalie Lasseaux pour son aide, ses conseils et sa gentillesse.

A mes parents, mes grands parents, mon frère, ma sœur,  
Merci pour votre soutien et vos encouragements au quotidien. Sans vous je n'aurais pas pu être ce que je suis aujourd'hui. Merci d'avoir cru en moi.

A Olivier, mon soutien quotidien, ma plus belle rencontre de ces années d'études. Merci de ta présence à mes côtés.

A mes amis,  
Cette thèse met un point final à ma longue scolarité, mais c'est grâce à elle que j'ai pu rencontrer un grand nombre d'entre vous. Merci à tous d'avoir été là dans les bons moments, de m'avoir aidée dans les moments difficiles, merci pour votre amitié fidèle et que celle-ci dure encore longtemps !

# Sommaire

<i>Liste des abréviations</i>	6
<i>Lexique</i>	8
<i>Liste des acides aminés</i>	10
<i>Liste des figures</i>	11
<i>Introduction</i>	12
<b>I. Généralités</b>	<b>14</b>
1. Historique	14
2. Epidémiologie	15
<b>II. Physiopathologie de la maladie</b>	<b>16</b>
1. Maladie génétique liée à l’X	16
2. Inactivation du chromosome X chez la femme (Lyonisation)	17
3. Rôle des lysosomes	18
4. Enzyme $\alpha$ galactosidase A	19
1. Synthèse	19
2. Rôle	19
5. Aspects cliniques de la maladie	21
1. Phase initiale : l’enfance	21
2. Phase d’état : l’âge adulte	25
3. Variants cardiaque et rénal	32
<b>III. Diagnostic de la maladie</b>	<b>33</b>
1. Dosage du Gb3 urinaire : exemple de l’étude de Piraud <i>et al</i> (2010)	33
1. Prélèvement	34
2. Extraction du Gb3	34
3. Analyse par spectrométrie de masse en tandem	34
4. Résultats de l’étude	35
A. Hommes hémizygotés	35
B. Femmes hétérozygotes	35
5. Suivi de traitement	36
2. Dosage de l’activité enzymatique	36
3. Analyse moléculaire du gène GLA	38
4. Diagnostic histologique	40
5. Diagnostic néonatal	40
6. Résumé	42
<b>IV. Traitement et surveillance</b>	<b>43</b>
1. Surveillance des atteintes organiques	43
2. Traitement symptomatique	44

<b>3. Traitement enzymatique</b>	<b>44</b>
1. Principe	44
2. Traitements disponibles en France	45
A. Agalsidase $\alpha$ : Replagal <sup>®</sup> : Résumé des caractéristiques du produit	45
a. Indications	45
b. Mécanisme d'action	45
c. Mode de fabrication	45
d. Posologie et mode d'administration	45
e. Interactions	46
f. Effets indésirables	46
g. Contre-indications	48
h. Efficacité et tolérance clinique	48
i. Mode et durée de conservation	49
j. Coût du traitement	49
B. Agalsidase $\beta$ : Fabrazyme <sup>®</sup> : Résumé des caractéristiques du produit	50
a. Indications	50
b. Mécanisme d'action	50
c. Mode de fabrication	50
d. Posologie et mode d'administration	50
e. Interactions	51
f. Effets indésirables	51
g. Contre-indications	52
h. Efficacité et tolérance clinique	52
i. Mode et durée de conservation	53
j. Coût du traitement	54
3. Efficacité de l'enzymothérapie sur différents symptômes	54
1. Effets sur le cœur	54
2. Effets sur les reins	54
3. Effets sur la douleur	55
4. Efficacité de l'enzymothérapie selon les populations	55
1. Effets chez les enfants et adolescents	55
2. Effets chez les femmes	57
5. Tolérance de l'enzymothérapie substitutive	58
6. Conclusion	60
<b>4. Protéines chaperons</b>	<b>61</b>
1. Principe	61
2. Utilisation des protéines chaperons dans la maladie de Fabry	61
<b>5. Thérapie génique</b>	<b>64</b>
1. Principe	64
2. Les vecteurs	64
1. Les vecteurs non viraux	64
2. Les vecteurs viraux	65
3. Application à la maladie de Fabry	66
<b>Conclusion</b>	<b>69</b>
<b>Annexe 1: Brief Pain Inventory</b>	<b>71</b>
<b>Annexe 2: Short form 36</b>	<b>73</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>76</b>
<b>Résumé</b>	<b>80</b>

## Liste des abréviations

**$\alpha$  gal A** :  $\alpha$  galactosidase A  
 **$\alpha$ -MHC** :  $\alpha$ -myosin heavy chaîne  
**AAV** : Adénovirus associés  
**ADN** : Acide desoxyribonucléique  
**AMM** : Autorisation de mise sur le marché  
**ARN** : Acide ribonucléique  
**ATU** : Autorisation temporaire d'utilisation  
**AVC** : Accident vasculaire cérébral  
**BHE** : Barrière hémato-encéphalique  
**BPI** : Brief Pain Inventory  
**CHO** : Chinese hamster ovary  
**cTnT** : Cardiac troponin T  
**DFG** : Débit de filtration glomérulaire  
**DGJ** : Deoxygalactonojirimycin  
**DPI** : Diagnostic préimplantatoire  
**DPN** : Diagnostic prénatal  
**EVA** : Echelle visuelle analogique  
**FAMA** : Fluorescence assisted mismatch analysis  
**FDA** : Food and drug administration  
**Gb3** : Globotriaosylcéramide  
**HAS** : Haute autorité de santé  
**HDL** : High density lipoprotein  
**Hsp** : Heat shock proteins  
**HT** : Hors taxe  
**IEC** : Inhibiteur de l'enzyme de conversion  
**IgG** : Immunoglobuline de type G  
**IgE** : Immunoglobuline de type E  
**IRM** : Imagerie par résonance magnétique  
**LDL** : Low density lipoprotein  
**MLC2V** : Myosin light chain

**MS/MS** : Spectrométrie de masse en tandem

**NHSC** : National horizon scanning centre

**ORL** : Oto-rhino-laryngée

**PCR** : Réaction de polymérisation en chaîne

**RCP** : Résumé des caractéristiques du produit

**RE** : Réticulum endoplasmique

**SLN** : Nanoparticules lipidiques solides

**SNA** : Système nerveux autonome

**SNC** : Système nerveux central

**Xist** : X inactivation specific transcript

# Lexique

**Acouphène** : Perception généralement erronée d'une sensation sonore (bourdonnement, sifflement, grésillement).

**Anhydrose** : Absence de sécrétion sudorale.

**Axone** : Long prolongement cytoplasmique du corps cellulaire du neurone dont la terminaison est en contact avec un autre neurone ou avec un organe effecteur.

**Cochlée** : Partie de l'oreille interne dévolue à l'audition.

**Dysgueusie** : Trouble de la perception normale du goût.

**Dyspepsie** : Sensation d'inconfort digestif apparaissant après le repas.

**Dysphagie** : Trouble de la déglutition lié à la difficulté du passage des aliments de la bouche vers l'estomac.

**Dyspnée** : Gêne respiratoire (essoufflement) ressentie par un malade.

**Endocardite** : Inflammation de l'endocarde, tunique interne du cœur tapissant l'intérieur du myocarde et limitant les cavités cardiaques.

**Glande eccrine** : Glande dont le contenu est excrété directement à la surface de la peau.

**Hyperémie oculaire** : Accroissement du flux sanguin au niveau de l'œil.

**Hypoesthésie** : Baisse de l'intensité des sensations.

**Hypohydrose** : Diminution de la sécrétion de sueur.

**Intima** : Tunique interne d'un vaisseau artériel.

**Léthargie** : Etat pathologique de sommeil profond et prolongé, sans fièvre ni infection, caractérisé par le fait que le malade est susceptible de parler quand on le réveille mais oublie ses propos et se rendort promptement.

**Lipothymie** : Sensation de perte de connaissance imminente.

**Media** : Tunique intermédiaire d'un vaisseau artériel.

**Paresthésie** : Sensation anormale, non douloureuse mais désagréable, ressentie sur la peau.

**Parosmie** : Déformation de la perception d'une odeur qui devient souvent une odeur désagréable.

**Pathognomonique** : Caractéristique d'une seule maladie.

**Péricytes** : Cellules de la lame basale de l'endothélium.

**Podocytes** : Cellules épithéliales différenciées et ramifiées composant le feuillet viscéral de la capsule de Bowman au niveau du glomérule rénal. Ils assurent la filtration du plasma sanguin à travers leurs pédicelles.

**Tachypnée** : Accélération anormale de la fréquence respiratoire.

**Vertébrobasilaire (territoire)** : Zone cérébrale constituée du tronc basilaire (issu de la fusion des deux artères vertébrales) qui chemine en avant du tronc cérébral et donne naissance à la vascularisation des territoires cérébraux occipitaux, du cervelet et du tronc cérébral.

**Vestibule** : Partie centrale du labyrinthe osseux de l'oreille interne. Son rôle est de permettre le maintien de l'équilibre d'un individu.

**Vitropression** : Appui avec une lame de verre sur une lésion de la peau afin de chasser le sang des vaisseaux de la zone comprimée.

## Liste des acides aminés

Acide aminés	Abréviation	Code à une lettre
<b>Acide glutamique ou Glutamate</b>	Glu	E
<b>Acide aspartique ou Aspartate</b>	Asp	D
<b>Alanine</b>	Ala	A
<b>Arginine</b>	Arg	R
<b>Asparagine</b>	Asn	N
<b>Cystéine</b>	Cys	C
<b>Glutamine</b>	Gln	Q
<b>Glycine</b>	Gly	G
<b>Histidine</b>	His	H
<b>Isoleucine</b>	Ile	I
<b>Leucine</b>	Leu	L
<b>Lysine</b>	Lys	K
<b>Méthionine</b>	Met	M
<b>Phénylalanine</b>	Phe	F
<b>Proline</b>	Pro	P
<b>Sérine</b>	Ser	S
<b>Thréonine</b>	Thr	T
<b>Tryptophane</b>	Trp	W
<b>Tyrosine</b>	Tyr	Y
<b>Valine</b>	Val	V

## Liste des figures

**Figure 1** : L'appareil de Golgi : voie de triage lysosomale.

**Figure 2** : Structure du Gb3.

**Figure 3** : Synthèse du Gb3 par l' $\alpha$ -1,4-galactosyltransférase.

**Figure 4** : Angiokératomes chez un patient atteint de la maladie de Fabry.

**Figure 5** : Tortuosité des vaisseaux réiniens.

**Figure 6** : Schéma de la capsule de Bowman où à lieu la première étape de filtration du sang pour former l'urine.

**Figure 7** : Structure du céramide.

**Figure 8** : Principe de la mesure de l'activité enzymatique de l' $\alpha$  gal A en présence de 4-méthylumbelliféryl- $\alpha$ -D-galactose et de N-acétyl-D-galactosamine.

**Figure 9** : Amplification d'un gène par PCR.

**Figure 10** : Principe de fonctionnement de l'enzymothérapie substitutive.

## Introduction

La maladie de Fabry est une maladie rare, héréditaire, dont la transmission est liée au chromosome X. Elle appartient au groupe des maladies de surcharge lysosomale, dont fait aussi partie la maladie de Gaucher. Elle se caractérise par un déficit en une enzyme, l' $\alpha$  galactosidase A ( $\alpha$  gal A), contenue dans les lysosomes. Ce déficit provoque l'accumulation au sein des lysosomes d'un glycosphingolipide, le globotriaosylcéramide (Gb3), responsable d'une atteinte progressive de nombreux organes, entraînant des symptômes variés : atteintes oculaire, digestive, cutanée, cardiaque, rénale, pulmonaire mais aussi atteinte du système nerveux central et périphérique. La maladie se développe progressivement et le diagnostic est souvent fait tardivement. Chez les hommes, le diagnostic se fait par mesure de l'activité enzymatique de l' $\alpha$  gal A dans les cellules et fluides extracellulaires. Chez la femme, une recherche de mutation du gène sur le chromosome X est nécessaire.

Depuis 2001, deux traitements enzymatiques substitutifs sont commercialisés en Europe : il s'agit de l'agalsidase  $\alpha$  (Replagal®) et de l'agalsidase  $\beta$  (Fabrazyme®). Ces traitements sont produits par génie génétique et doivent être pris à vie par les patients.

Ces thérapies enzymatiques ont des bénéfices variables selon les catégories d'âge et de sexe, les patients ne répondant pas de la même manière au traitement selon qu'ils soient enfants, adolescents, femmes ou hommes hémizygotés. De plus, ces médicaments n'ont pas une action sur tous les symptômes de la maladie et des traitements symptomatiques complémentaires doivent être instaurés.

Afin d'améliorer la qualité de vie des patients et l'efficacité des thérapies, des recherches sur une nouvelle stratégie de traitement pouvant être associée au substitut enzymatique ont été faites. Cette thérapie induit la maturation et le repliement correct dans le réticulum endoplasmique de l'enzyme déficiente grâce à une molécule dite chaperon.

Depuis la fin des années 90, des expériences de thérapie génique ont été réalisées sur des modèles de souris porteuses de la maladie de Fabry. Des vecteurs rétroviraux ou adénoviraux associés sont utilisés pour introduire le gène normal codant pour l'enzyme  $\alpha$  gal A, afin que l'organisme de l'animal puisse produire naturellement cette enzyme.

Le succès de ces modèles pré-cliniques a permis à des chercheurs canadiens de pouvoir commencer une étude clinique chez des patients atteints de la maladie de Fabry. Cette étude est réellement porteuse d'espoir puisqu'elle pourrait permettre à des milliers de personnes dans le monde d'améliorer leurs conditions de vie.

Dans cette thèse, la première partie traitera des causes de la maladie de Fabry liées à la génétique ainsi qu'aux conséquences cliniques qu'elle peut engendrer chez les individus atteints. La deuxième partie présentera les différentes méthodes de diagnostic pouvant être utilisées. Enfin, une troisième partie sera consacrée aux traitements existants à ce jour, ainsi qu'à l'apport des nouvelles biotechnologies pour des traitements futurs.

# I. Généralités

## 1. Historique

La maladie de Fabry a été décrite pour la première fois en 1898 par deux dermatologues travaillant indépendamment l'un de l'autre : Johannes Fabry et William Anderson.

Le premier étudiait la dermatologie à l'Université de Bonn en Allemagne et le second à l'Hôpital de Londres. Tous deux décrivent un patient avec un angiokératome diffus, formant des lésions de la peau sous forme de papules rouge violacées, reconnues aujourd'hui comme un symptôme caractéristique de la maladie [L1 chapitre 1].

En 1947, Pompen vint compléter la description de la maladie en mettant en évidence des dépôts lipidiques dans les vaisseaux sanguins des malades. Mais ce n'est qu'en 1963 que Sweeley et Klionsky ont identifié la nature de ces dépôts, à savoir un sphingolipide : le globotriaosylcéramide (Gb3).

Le déficit enzymatique en  $\alpha$  gal A à l'origine de ces dépôts a été quant à lui, démontré en 1967 par Brady et a abouti au séquençage du gène codant pour l' $\alpha$  gal A à la fin des années 1980 [1].

Cette découverte permettra au début des années 1990 de pouvoir produire l'enzyme  $\alpha$  gal A *in vitro*. Après une dizaine d'années d'étude et d'essais cliniques, la commercialisation de la première thérapie enzymatique substitutive pour la maladie de Fabry voit le jour en 2001 sous le nom de Fabrazyme®. Ce médicament est commercialisé par le laboratoire Genzyme et obtient une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) de cohorte en France en janvier 2001 puis une autorisation de mise sur le marché (AMM) européenne en août de la même année, en même temps qu'un deuxième médicament du laboratoire TKT Europe 5S : Replagal® [12].

Plus récemment, avec l'essor des biotechnologies, des études de thérapie génique menées sur des souris ont donné de bons résultats. Des vecteurs rétroviraux ont été utilisés pour introduire le gène sain codant pour l' $\alpha$  gal A dans la moelle osseuse des rongeurs [L1 chapitre 43].

## 2. Epidémiologie

C'est une maladie rare qui touche de 2000 à 4000 personnes dans le monde [13].

La prévalence estimée de la maladie est de 1/40 000 chez les hommes à 1/117 000 naissances dans la population générale (Lidove *et al* 2007).

## II. Physiopathologie de la maladie

### 1. Maladie génétique liée à l’X

La maladie de Fabry est une maladie héréditaire de transmission liée à l’X. C’est le gène GLA codant pour l’ $\alpha$  gal A, enzyme lysosomale déficiente dans la maladie, qui est muté.

Ce gène est situé sur le bras long du chromosome X en position 22 (locus Xq22). Il a une taille de 12436 paires de bases et comprend 7 exons. La taille des exons est comprise entre 92 et 291 paires de bases, celle des introns entre 200 et 3700 paires de bases. Les jonctions exons-introns suivent la règle GT/AG. Le gène code pour une protéine de 429 acides aminés. A l’extrémité N terminale on retrouve 31 acides aminés formant le peptide signal (Froissart *et al* 2010) [14].

La séquence complète en acides aminés de l’ $\alpha$  gal A est la suivante [15]:

```
MQLRNPELHLGCALALRFLALVSWDIPGARALDNGLARTPTMGWLHWERFMCNLDCCQEEPDS  
CISEKLFMEMAELMVSEGWKDGAEYELCIDDCWMA PQRDSEGRLQADPQRFPHGIRQLANYV  
HSGKGLKLG IYADVGNKTCAGFPGSFGYDIDAQTFADWGVDLLKFDGCYCDLENLADGYKH  
MSLALNRTGRSIVYSCEWPLYMWPFFQKPNYTEIRQYCNHWRNFADIDDSWKS IKSILDWTSF  
NQERIVDVAGPGGWNDPMLVIGNFGLSWNQV TQMALWA IMAAPLFMSNDRHISPQAKAL  
LQDKDVIAINQDPLGKQGYQLRQGDNFEVWERPLSGLAWAVAMINRQEIGGPRSYTIAVASL  
GKGVACNPACFITQLLPVKRKLGFYEWTSRLRSHINPTGTVLLQLENTMQMSLKDLL
```

Environ 500 mutations ont été décrites dans le gène GLA chez des patients porteurs de la maladie de Fabry. La plupart de ces mutations sont uniques et propres à une famille.

Ces mutations sont ponctuelles, c’est-à-dire touchant de un à dix nucléotides. Les plus courantes sont des mutations faux-sens et non-sens (68,6%).

La mutation faux-sens se traduit par un remplacement d’un nucléotide par un autre conduisant à un changement d’acide aminé dans l’ $\alpha$  gal A.

La mutation non-sens est un changement de nucléotide provoquant l’apparition d’un codon stop à la place d’un acide aminé. L’enzyme produite est alors tronquée.

D’autres mutations sont retrouvées dans la maladie de Fabry : des mutations au niveau du site d’épissage (5,5%), des délétions de petite taille (14,6%) et de grande taille (3%), des insertions de petite taille (5,5%). Ces insertions et délétions entraînent un décalage du cadre

de lecture. Les nouveaux codons sont traduits en une nouvelle séquence d'acides aminés, conduisant à la production d'une enzyme  $\alpha$  gal A déficiente, ne pouvant dégrader le globotriaosylcéramide [16].

Ce sont les parents porteurs de la mutation présente sur le chromosome X qui transmettent la maladie à leurs descendants. Différents cas peuvent être envisagés selon si c'est le père ou la mère qui est porteur de la maladie :

- Si le père est porteur de la mutation et la mère saine :
  - Aucun des fils ne portera la maladie, car le père transmet le Y à ses fils et la mère un X.
  - Les filles seront toutes hétérozygotes pour la maladie, car le père leur transmet le X muté et la mère un X normal.
- Si la mère est porteuse de la mutation et le père sain :
  - 50% des filles seront atteintes par la maladie car le père transmet son X sain et la mère soit l'X sain soit l'X muté.
  - 50% des fils seront atteints par la maladie car le père sain leur transmet le Y et la mère soit l'X sain soit l'X muté.

La maladie de Fabry étant une maladie très rare, il n'a pas été décrit de cas où le père et la mère étaient porteurs tous les deux de la mutation.

Recevoir le chromosome X porteur du gène GLA muté, n'a pas les mêmes conséquences chez les hommes et chez les femmes.

En effet, même si les femmes ont le gène muté sur un de leurs chromosomes X, elles ont aussi le gène sain sur l'autre chromosome, ce qui leur permet de limiter le déficit enzymatique quand l'X sain n'est pas inactivé dans cette cellule.

En revanche, chez les hommes l'enzyme est complètement déficiente car le chromosome Y ne porte pas les mêmes gènes que le X [14].

## **2. Inactivation du chromosome X chez la femme (Lyonisation)**

Chez les femmes, les cellules somatiques contiennent deux chromosomes X alors que chez les hommes, elles n'en contiennent qu'un. Afin d'équilibrer le produit des gènes lié au chromosome X, chez la femme un des deux chromosomes est inactivé. Ce phénomène est appelé « compensation de dosage ».

Cette inactivation se produit au cours des premiers stades de l'embryogenèse, et est aléatoire. Une longue molécule d'ARN de 17 kb non codante, appelé Xist (X inactivation specific transcript) recouvre un des deux chromosomes X dans les cellules. Cette hétérochromatine est aussi appelée corpuscule de Barr. Elle permet d'inhiber les gènes présents sur le chromosome X par méthylation ou modification des histones. Xist est le produit du gène Xist situé sur en Xq 13.2. [L6][L8].

Le chromosome X inactivé chez la femme diffère aléatoirement d'une cellule à l'autre. Le profil d'inactivation est transmis de façon stable à toutes les cellules filles. Les tissus somatiques féminins sont des mosaïques génétiques. Dans le cas de la maladie de Fabry, une femme peut avoir à la fois des cellules saines et des cellules présentant l'anomalie génétique [L7].

### 3. Rôle des lysosomes

Découverts en 1955 par Christian de Duve, les lysosomes sont des sous-unités de la cellule humaine contenant près de cinquante enzymes (hydrolases acides) nécessaires à la digestion des macromolécules cellulaires : protéines, lipides, polysaccharides, acides nucléiques. Les produits de dégradation (peptides, acides aminés, acides gras, monosaccharides, oligosaccharides, nucléotides) sont transférés dans le cytosol par une perméase spécifique et recyclés dans le métabolisme [L1 chapitre 3].

Le pH interne des lysosomes est de l'ordre de 5. Il est maintenu grâce à une pompe à protons qui concentre ces derniers dans la lumière du lysosome.

Les protéines de la membrane plasmique du lysosome ainsi que les hydrolases sont synthétisées dans le réticulum endoplasmique. Elles possèdent une séquence signal qui permet à une phosphotransférase d'ajouter des groupements phosphates sur les mannoses des oligosaccharides, dans le *cis*-Golgi. Elles sont par la suite reconnues dans le *trans*-Golgi par des récepteurs du mannose-6-phosphate. Ces protéines vont être recouvertes de clathrines puis adressées vers les lysosomes où elles vont y subir une maturation en milieu acide et perdre leur phosphate. Les récepteurs sont recyclés et retournent, *via* des vésicules dans le réseau *trans*-Golgien (Figure 1) [L2].

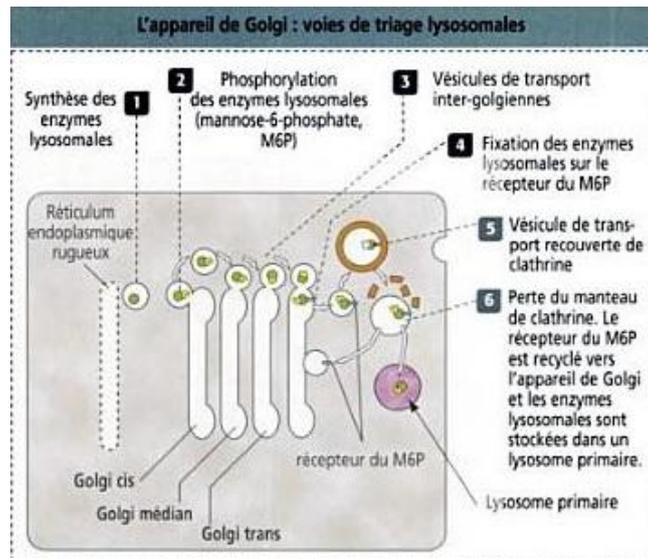


Figure 1 : L'appareil de Golgi : voie de triage lysosomale [L3].

## 4. Enzyme $\alpha$ galactosidase A

### 1. Synthèse

C'est l'enzyme lysosomale qui est déficiente dans la maladie de Fabry.

Chez les sujets sains, c'est une protéine d'environ 101 kD. Elle a une structure homodimérique, résultant de l'assemblage de deux sous-unités constituées de 398 acides aminés chacune et possédant chacune un site actif.

L' $\alpha$  gal A est synthétisée sous la forme d'un précurseur polypeptidique de 429 acides aminés dont les 31 premiers constituent le peptide signal. Celui-ci est clivé dans le réticulum endoplasmique. L'enzyme  $\alpha$  gal A est transportée vers l'appareil de Golgi, où elle va subir une N-glycosylation dans le *cis* Golgi, permettant l'acquisition de résidus mannose-6-phosphate. Ces résidus vont permettre la reconnaissance de l'enzyme dans le *trans* golgi et l'adressage aux lysosomes. L'enzyme est encapsulée dans les lysosomes où elle va subir une maturation (Henda *et al* 2013).

### 2. Rôle

L' $\alpha$  gal A a pour fonction d'hydrolyser les fragments  $\alpha$  galactosyl terminaux des glycolipides et des glycoprotéines.



## 5. Aspects cliniques de la maladie

La maladie de Fabry présente une grande variabilité de signes et d'expressions cliniques différant d'un sujet à l'autre. C'est une maladie évoluant lentement. Les signes cliniques surviennent chez l'homme hémizygoté comme chez la femme hétérozygote, mais plus précocement et plus gravement chez l'homme (Lidove *et al* 2007). Les premières manifestations apparaissent dans l'enfance ou à l'adolescence avec des acroparesthésies (douleurs des extrémités), des angiokératomes (papules rouges violacées), une hypohydrose (diminution de la sécrétion de sueur) et des dépôts cornéens. A l'âge adulte, aux alentours de 30 ans, des signes cliniques plus graves se déclarent, notamment cardiaques, rénaux, et neurologiques (Barbey *et al* 2000).

### 1. Phase initiale : l'enfance

- Acroparesthésies

Ce sont des sensations d'engourdissements, de picotements et de fourmillements de l'extrémité des membres [18]. Ces douleurs peuvent parfois irradier à l'abdomen de manière très intense. Elles sont décrites comme des brûlures pouvant durer de quelques minutes à quelques jours. Ces brûlures sont attribuées à l'accumulation de glycosphingolipides dans les cellules ganglionnaires spinales. Elles sont souvent déclenchées par la chaleur, l'effort physique ou la fièvre.

C'est un des premiers signes qui apparaît dans l'enfance et qui diminue en fréquence et en intensité à l'âge adulte (Lidove *et al* 2007). Ces douleurs neuropathiques s'accompagnent parfois d'une fièvre, de manifestations articulaires et une augmentation de la vitesse de sédimentation. L'association de ces symptômes évoque souvent à tort un rhumatisme articulaire aigu ou une maladie de Still de l'enfant (Barbey *et al* 2000).

- Atteintes digestives

La majorité des personnes atteintes de maladie de Fabry sont victimes de troubles digestifs peu spécifiques, de type diarrhée, constipation, douleurs abdominales, nausées, vomissements, troubles de la satiété.

La diarrhée est le trouble le plus rapporté par les patients, avec les crampes abdominales. Ces douleurs surviennent le plus souvent après les repas, mais les épisodes de diarrhée ne sont pas accompagnés de mucus et de sang comme dans les maladies inflammatoires intestinales comme la maladie de Crohn ou la rectocolite hémorragique.

Dans beaucoup de cas, les épisodes de diarrhée alternent avec des périodes « normales » et parfois même de constipation.

Tous ces désagréments conduisent souvent les patients à réduire leurs repas, ce qui conduit à une perte de poids et un amaigrissement.

Dans la maladie de Fabry, les examens endoscopiques et coloscopiques sont normaux, mais l'examen microscopique de biopsie démontre l'accumulation de lipides et notamment de Gb3 dans les cellules du muscle lisse intestinal ainsi que dans le cytoplasme des neurones entériques.

Toutes ces manifestations contribuent à la mauvaise qualité de vie du patient et sans traitement, tous ces symptômes s'intensifient en fréquence et intensité au fur et à mesure de la progression de la maladie [L1 chapitre 28].

- Angiokératomes

Les angiokératomes sont l'un des premiers signes de la maladie de Fabry, avec une apparition chez les enfants entre 5 et 15 ans.

Ces lésions sont des papules, recouvertes d'une surface hyperkératosique qui se vident partiellement à la vitropression (appui avec une lame de verre sur une lésion de la peau afin de chasser le sang des vaisseaux de la zone comprimée). Les angiokératomes sont des lésions de couleur rouge sombre caractérisées par la prolifération de vaisseaux sanguins dilatés dans le derme supérieur (Figure 4).

Les veinules intradermiques sont le siège d'une accumulation de glycosphingolipides, responsable d'une augmentation de volume des vaisseaux et d'une hyper-pression localisée. En microscopie électronique, on observe des inclusions lysosomales dans l'endothélium vasculaire, dans les péricytes qui sont des cellules de la lame basale de l'endothélium, dans la membrane des nerfs ainsi que dans les fibroblastes du derme.

Les lésions se regroupent le plus souvent en nappe, de manière symétrique. Elles touchent principalement les cuisses, la zone inguinale, les fesses, les organes génitaux externes et la moitié inférieure de l'abdomen. Cette distribution est dite « en caleçon » (Figure 4).

Les muqueuses buccales et conjonctivales ainsi que la plante des pieds et le menton peuvent être touchées de manière isolée [L1 chapitre 24].

Les angiokératomes ne sont pas pathognomoniques de la maladie de Fabry (Mahé *et al* 2005).

Ils peuvent être traités par des séances de laser, permettant une régression rapide des lésions [L4].



Figure 4 : Angiokératomes chez un patient atteint de la maladie de Fabry [13].

- Anomalie de sudation

L'hypohydrose, voire parfois l'anhydrose, sont des manifestations rencontrées chez les personnes atteintes par la maladie, avec une fréquence plus importante chez les hommes que chez les femmes.

Ces anomalies de la sudation entraînent des intolérances à la chaleur et à l'effort. Elles provoquent des pics fébriles isolés et contribuent au déclenchement des acroparesthésies. Les hypohydroses sont souvent accompagnées de sécheresses buccale et ophtalmique [L1 chapitre 24].

Le manque de sueur peut être mis en évidence par différents tests :

- Test à la sueur de thermorégulation : le corps du patient est recouvert d'une poudre qui, quand il transpire, change de couleur. Le patient est placé dans une chambre dont la température augmente progressivement.
- Réflexe d'axone test : De petites électrodes placées sur l'avant-bras, la jambe ou le pied, activent les nerfs innervant les glandes sudoripares. Le volume de sueur produit par cette stimulation est alors évalué.

Un changement de l'apport sanguin serait en partie responsable de l'hypohydrose. En effet, un réseau capillaire entoure chaque glande sudorale eccrine (glande dont le contenu est excrété directement à la surface de la peau). Ce réseau apporte l'eau et les électrolytes aux glandes sécrétrices ainsi que l'oxygène et les nutriments pour la formation de sueur. Au microscope électronique, on peut observer des dépôts de glycosphingolipides au niveau des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. La lumière des vaisseaux alimentant la glande est alors obstruée, réduisant ainsi le flux sanguin. La formation de sueur ainsi que la nutrition des cellules de la glande sont compromises, entraînant un dysfonctionnement de la transpiration chez les malades.

Dans les cellules sécrétrices de la glande eccrine, s'accumulent également le Gb3 au sein du cytoplasme. Ces inclusions vont être excrétées dans les canalicules intercellulaires après rupture des membranes de la cellule. Les ruptures membranaires conduisent à la destruction de la glande par mort cellulaire.

Des inclusions lipidiques ont aussi été retrouvées dans les neurones des ganglions du système nerveux autonome (SNA). Les axones, myélinisés ou non, situés autour des glandes eccrines, vont progressivement dégénérer. Le dysfonctionnement du système nerveux autonome provoque une diminution de la transpiration, par non transmission de l'information aux glandes (Lao *et al* 1998).

- Atteinte ophtalmique

Les manifestations oculaires les plus spécifiques de la maladie de Fabry sont des anomalies vasculaires conjonctivales et rétiniennes, des opacités cornéennes (cornée verticillée) et

cristallinienne (cataracte). Ces symptômes résultent du dépôt progressif de glycosphingolipides dans les diverses structures oculaires (Barbey *et al* 2000).

La cornée verticillée est l'anomalie ophtalmique la plus fréquemment retrouvée autant chez les hommes hémizygotés que chez les femmes hétérozygotes. Elle n'entraîne pas de déficit visuel mais peut représenter un marqueur diagnostique utile. Elle est visible à la lampe à fente et traduit la présence de dépôts épithéliaux diffus ou linéaires réalisant un aspect tourbillonnant en « moustache de chat ». Les opacités cornéennes sont floconneuses et de teinte gris brun.

Une tortuosité des vaisseaux conjonctivaux et rétiniens est visible au fond d'œil (Figure 5) (Lidove *et al* 2007).



Figure 5 : Tortuosités des vaisseaux rétiniens (Morier *et al* 2010)

## ***2. Phase d'état : l'âge adulte***

- Atteinte auditive

Les manifestations ORL (oto-rhino-laryngée) ont longtemps été ignorées dans la maladie de Fabry même si certains auteurs décrivaient dès 1950 des épisodes de surdité, d'acouphènes et de crises vertigineuses. La cochlée et le vestibule sont les éléments de l'oreille concernés par une destruction lente et progressive.

Les manifestations cochléaires peuvent aller d'une hypoacousie légère jusqu'à une surdité profonde neurosensorielle. Des épisodes de surdité brusque sont très souvent rapportés. La plupart du temps, ce sont les fréquences aiguës qui sont atteintes.

Des acouphènes sont souvent décrits en plus de tous ces symptômes. Ils peuvent être isolés chez des patients dont l'audition est normale ou survenir en association à des épisodes de surdité brusque.

Les manifestations physiopathologiques responsables des altérations cochléaires dans la maladie de Fabry ne sont pas encore élucidées malgré de nombreuses constatations sur divers cas. Lors d'autopsies de patients décédés des suites de la maladie, plusieurs observations au niveau du système auditif ont été faites de façon non constante :

- Le nombre de cellules ciliées était diminué au niveau de l'organe de Corti.
- La strie vasculaire était atrophiée et le ligament spiral acellulaire : Ces deux structures sont impliquées dans la synthèse et la réabsorption des liquides de l'oreille.
- Les cellules du ganglion spiral étaient ballonnées et se raréfiaient à chaque tour de spire.
- Les cellules endothéliales de l'artère du conduit auditif interne étaient déformées par leur cytoplasme vacuolisé.
- Une accumulation de glycosphingolipides était observée dans l'oreille interne, au niveau des cellules endothéliales vasculaires ou dans les cellules ganglionnaires.

Ces observations ne sont pas spécifiques de la maladie de Fabry car elles n'ont pas été retrouvées chez tous les patients.

Les manifestations vestibulaires vont de petits vertiges légers jusqu'à de grandes crises vertigineuses toutefois exceptionnelles. Peu d'études histopathologiques ont été menées. Un seul cas de dépôt de sphingolipide dans un ganglion de Scarpa avec des cellules ballonnées a été rapporté.

Ces symptômes vestibulaires et cochléaires sont à la fois présents chez les hommes hémizygotés et chez les femmes hétérozygotés (Malinvaud *et al* 2010).

- Atteinte rénale

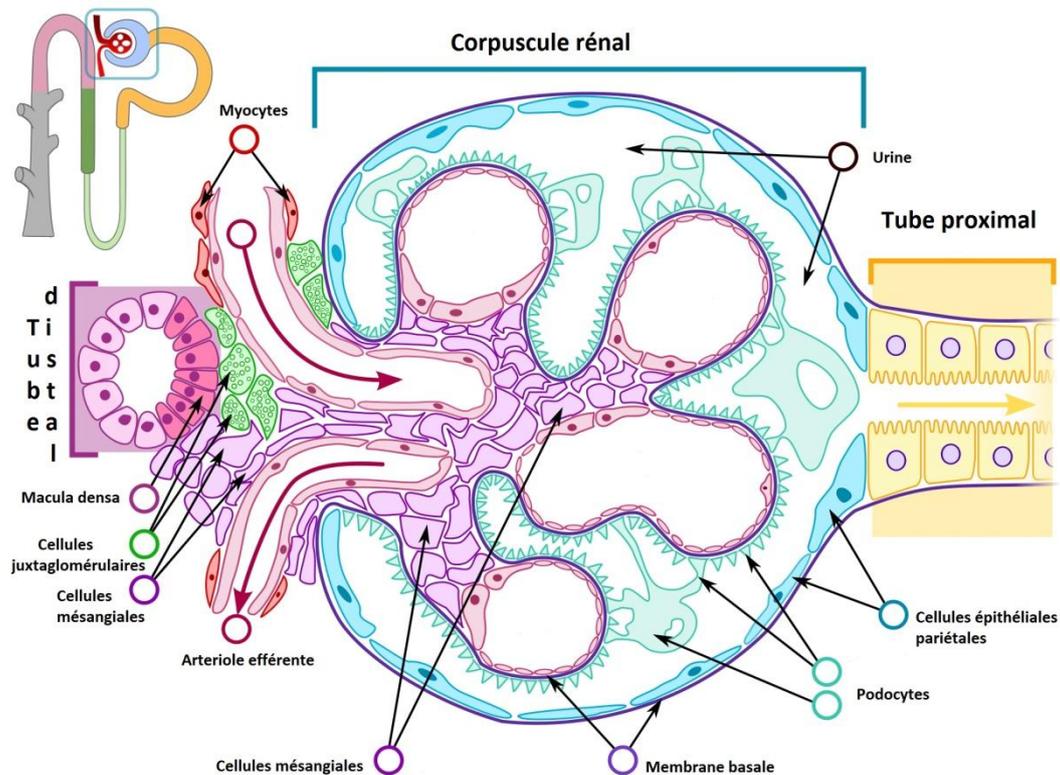
C'est une des manifestations majeures de la maladie de Fabry. Elle se caractérise initialement par des lésions de surcharges, présentes précocement dans les cellules rénales ainsi que dans les cellules endothéliales et musculaires lisses des vaisseaux sanguins.

Chez le sujet hémizygoté de sexe masculin, les lésions rénales de surcharges sont diffuses dans toutes les cellules glomérulaires, dans les cellules vasculaires et dans les cellules interstitielles. Ces lésions sont plus irrégulières dans les tubes distaux et collecteurs du rein et elles se font très rares dans les tubes proximaux.

En microscopie optique, au niveau glomérulaire (Figure 6), on observe une hypertrophie et un aspect clair des podocytes dont le cytoplasme est vacuolisé. La surcharge podocytaire est massive, les inclusions refoulent le noyau et envahissent le cytoplasme. Les cellules épithéliales de la capsule de Bowman présentent également une vacuolisation. Les lésions de surcharges sont visibles dans l'ensemble des cellules endothéliales et musculaires lisses vasculaires dont le cytoplasme est anormalement clair. Le volume occupé par la surcharge augmente avec l'âge du patient. Dans les cellules mésangiales la surcharge est plus modérée mais est présente pour toutes les cellules. Le segment tubulaire proximal présente des lésions de surcharge discrète avec parfois une désorganisation de la bordure en brosse. Les cellules de l'anse de Henlé ainsi que du tube distal présentent une accumulation massive de glycolipides, avec des inclusions pouvant atteindre 10 µm de diamètre.

L'atteinte vasculaire des artères, artérioles et capillaires est diffuse et sévère. Elle entraîne le développement progressif de lésions de fibrose parenchymateuse conduisant à l'insuffisance rénale terminale.

Les mécanismes lésionnels conduisent à l'apparition d'une protéinurie modérée (inférieure à 1g/24h). L'insuffisance rénale chronique évolue vers un stade terminal avant 50 ans chez la plupart des hommes atteints de la maladie de Fabry. Celle-ci s'accompagne dans un tiers des cas d'une hypertension artérielle.



**Figure 6** : Schéma de la capsule de Bowman où à lieu la première étape de filtration du sang pour former l'urine [118].

Chez les sujets de sexe féminin, l'expression clinique est très variable. Exceptionnellement, la biopsie rénale peut montrer un rein strictement normal mais le plus souvent les lésions de surcharges podocytaires sont visibles en microscopie optique.

L'étude ultrastructurale met en évidence la distribution irrégulière de la surcharge dans les podocytes, les cellules glomérulaires et les cellules vasculaires.

La biopsie rénale n'est pas indispensable au diagnostic de la maladie de Fabry, mais est indiquée en cas d'augmentation de la protéinurie ou d'aggravation brutale de la fonction rénale. Son analyse est importante pour juger de la sévérité des lésions et donc du pronostic de la néphropathie aussi bien chez les sujets masculins que féminins.

De plus, c'est une excellente approche pour juger de l'efficacité de l'enzymothérapie substitutive. La persistance de dépôts glycolipidiques dans les cellules endothéliales glomérulaires, extraglomérulaires, mésangiales et interstitielles d'un patient sous traitement enzymatique peut être marqueur d'un traitement insuffisant (Gubler *et al* 2010).

L'insuffisance rénale est la complication la plus fréquente et la plus grave chez les patients atteints de la maladie de Fabry. C'est pourquoi la dialyse chronique et/ou la transplantation sont devenus des traitements salvateurs. La transplantation corrige la fonction rénale et le rein transplanté reste indemne de dépôts de Gb3 puisque l'activité normale d' $\alpha$  gal A va cataboliser les substrats glycolipidiques endogène. Les candidats au don de rein doivent être examinés soigneusement, il doit notamment être prouvé l'absence de mutation sur le gène codant pour l' $\alpha$  gal A pour écarter des donneurs atteints (Desnick 2001).

- Atteinte cardiaque

Chez l'homme hémizygoté, l'âge moyen du diagnostic de l'atteinte cardiaque est de 30 ans. L'atteinte cardiaque réduit l'espérance de vie de 15 à 20 ans. Elle est souvent associée à une atteinte multi-systémique.

Les symptômes cardiaques sont variables : dyspnée, palpitations, syncopes, lipothymies, valvulopathies, atteinte coronarienne, insuffisance cardiaque voire mort subite. L'infarctus du myocarde est rare même si les douleurs thoraciques sont fréquentes.

Le symptôme cardiaque le plus fréquent est une hypertrophie ventriculaire gauche, qui se définit par un ventricule dont la masse atteint ou dépasse 225g. Elle peut aboutir à une insuffisance cardiaque diastolique. L'hypertrophie ventriculaire gauche apparaît en moyenne à l'âge de 38 ans chez les hommes et 54 ans chez les femmes. Elle concerne 50% à 70% des patients. Sa fréquence augmente avec l'âge.

L'échographie cardiaque permet le dépistage de l'hypertrophie ventriculaire gauche qui est souvent concentrique et homogène.

L'hypertrophie ventriculaire gauche se caractérise par un épaississement de l'oreillette gauche, du septum interventriculaire, de la paroi postérieure du ventricule gauche et une augmentation de la masse du ventricule gauche. L'hypertrophie associée du ventricule droit est rare (Launay *et al* 2005).

Les atteintes valvulaires sont dues à l'accumulation de Gb3 dans les fibroblastes valvulaires : ce sont des fuites valvulaires modérées, plus souvent mitrales qu'aortiques. Les valvulopathies peuvent se compliquer d'une endocardite.

L'électrocardiogramme met en évidence dans certains cas des anomalies de repolarisation, des troubles conductifs pouvant conduire à la pose d'un pace-maker, des tachycardies

supraventriculaires.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet la mise en évidence de zones de fibrose grâce à une injection de gadolinium qui s'accumule dans ces zones. L'extension d'une fibrose myocardique est de mauvais pronostic pour le patient.

A l'état critique de la maladie, le patient atteint d'une cardiomyopathie hypertrophique aura une diminution importante de la fonction diastolique (Hagège *et al* 2010).

- Atteinte respiratoire

Les problèmes respiratoires dans la maladie de Fabry sont moins décrits que tous les autres signes cliniques cités précédemment, mais certaines observations ont permis de montrer qu'ils ne sont pas négligeables dans la détérioration de la qualité de vie des patients.

Une bronchopneumopathie obstructive peut être révélée suite à un épaississement bronchique et une fibrose au niveau des voies aériennes. Le tabagisme est un facteur d'aggravation de ces atteintes respiratoires.

- Atteinte neurologique

Les atteintes neurologiques sont de différents types : elles peuvent toucher le système nerveux périphérique, les nerfs crâniens ou bien le système nerveux central.

Au niveau du système nerveux périphérique, on retrouve une dégénérescence axonale des petites fibres non myélinisées véhiculant des informations nociceptives. Celle-ci est responsable des crises d'acroparesthésies avec sensation de brûlure et de picotements au niveau des membres, décrite précédemment chez l'enfant.

L'atteinte du système nerveux autonome se traduit par une hypotension orthostatique rarement sévère mais responsable de syncopes. Elle touche également la motilité intestinale (diarrhée, crampes) et provoque une diminution des sécrétions lacrymales et salivaires. La fonction autonome cardiovasculaire est, quant à elle, normale.

Plusieurs analyses biochimiques et histochimiques ont confirmé l'accumulation de glycosphingolipides dans les ganglions spinaux et les ganglions sympathiques, aussi bien chez les hémizygotés que chez les hétérozygotés.

Contrairement à d'autres maladies lysosomales, la maladie de Fabry n'atteint pas les cellules de Schwann. En revanche, il existe une accumulation de Gb3 dans les cellules du SNA au

niveau du tronc cérébral, dans les ganglions sympathiques, dans les plexus sous-muqueux, dans les noyaux amygdaliens et dans la partie antérieure de l'hypothalamus.

Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) peuvent être la première manifestation clinique de la maladie de Fabry y compris chez les femmes. L'âge moyen de survenue d'un AVC varie entre 28 et 34 ans chez les hommes et entre 40 et 44 ans chez les femmes. La maladie de Fabry doit être évoquée devant tout accident cérébrovasculaire de l'adulte jeune.

Les récurrences d'AVC sont fréquentes (76% chez les hommes et 55% chez les femmes), l'intervalle moyen entre le premier accident et la première récurrence étant de 6 ans. Les récurrences aboutissent parfois à un syndrome démentiel, ce qui fait qu'une démence vasculaire inexplicée chez un homme de moins de 65 ans doit faire rechercher une maladie de Fabry.

Les AVC sont dans la majorité des cas ischémiques, localisés dans le territoire vertébrobasilaire. Les rares AVC hémorragiques sont dus à un mauvais contrôle de l'hypertension artérielle consécutive à une insuffisance rénale.

Plusieurs facteurs peuvent conduire à une occlusion artérielle et une ischémie cérébrale. La sténose des petits vaisseaux secondaire à un dépôt de sphingolipide dans la paroi vasculaire, aggravée par une prolifération cellulaire et une fibrose de l'*intima*, réduisent le diamètre luminal.

Une modification des artères de patients atteints par la maladie de Fabry a été démontrée en étudiant l'épaisseur *intima/media* ainsi que le diamètre diastolique interne de l'artère radiale et de la carotide commune droite par échographie. Les résultats de cette étude ont montré que l'épaisseur *intima/media* de l'artère radiale était deux fois plus élevée et le diamètre plus petit chez les patients atteints de la maladie de Fabry. Cette augmentation de l'épaisseur *intima/media* proviendrait d'une prolifération des cellules musculaires lisses avec inclusion de glycosphingolipides qui sécrètent une importante quantité de matrice extracellulaire au niveau des fibres élastiques de l'*intima* et de la *media*.

L'IRM est l'examen de choix pour la mise en évidence des lésions ischémiques chez les patients atteints. Cette imagerie cérébrale n'est normale que chez 25% des patients hémizygotés et 40% des patients hétérozygotés (Clavelou *et al* 2006) [L1 chapitre 23].

### ***3. Variants cardiaque et rénal***

On entend par « variant cardiaque » une forme de la maladie de Fabry se manifestant par une atteinte cardiaque exclusive ou prédominante.

Cela s'explique par une activité résiduelle de l'enzyme  $\alpha$  gal A entre 1 et 10% de la normale, retardant les autres signes cliniques de la maladie. Les patients sont asymptomatiques durant une grande partie de leur vie et n'expriment pas les manifestations classiques comme les acroparesthésies, les angiokératomes ou les opacités cornéennes.

Les malades présentent essentiellement une cardiomyopathie hypertrophique et/ou une coronaropathie d'évolution lente.

Le « variant rénal » a été identifié chez des patients japonais en hémodialyse chronique dont la maladie rénale avait été diagnostiquée à tort comme une glomérulonéphrite chronique. Ces six patients présentaient des mutations faux sens sur le gène codant pour l' $\alpha$  gal A. Tout comme dans le « variant cardiaque », les patients présentent un taux résiduel d'activité enzymatique (Desnick 2001).

### III. Diagnostic de la maladie

Lors d'une suspicion de la maladie de Fabry, le diagnostic doit être confirmé par des méthodes biochimiques et/ou génétiques.

Le diagnostic ne se fait pas de la même manière chez les hommes et chez les femmes.

Les premiers sont hémizygotés et présentent une activité enzymatique très faible ou nulle quand ils sont atteints. Un simple dosage de Gb3 urinaire permettra de confirmer ou d'infirmier la maladie. Ce dosage peut être complété par un dosage enzymatique sanguin de l' $\alpha$  gal A et/ou un séquençage du gène GLA.

Chez les femmes hétérozygotes, l'activité enzymatique peut être normale, le diagnostic repose alors sur une étude moléculaire du gène GLA.

#### 1. Dosage du Gb3 urinaire : exemple de l'étude de Piraud *et al* (2010)

Dans l'urine, le Gb3 provient de la desquamation des cellules tubulaires rénales et se retrouve principalement dans le sédiment urinaire. Auparavant, une diurèse complète était nécessaire pour analyser le sédiment urinaire par une technique de chromatographie sur couche mince. Aujourd'hui, de petits échantillons d'urine (simple miction) suffisent pour l'analyse par une technique de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), plus sensible et plus spécifique que la première.

La technique de spectrométrie de masse en tandem permet la détection des molécules selon leur masse.

Le Gb3 est une molécule dérivée du céramide. Le céramide est composé d'une base sphingoïde le plus souvent insaturée, comportant une fonction amine et deux fonctions alcool (Figure 7).

Dans le Gb3, une des fonctions alcool porte un chaînon trisaccharidique [Gal( $\alpha$ 1 $\rightarrow$ 4)Gal( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4)Glc( $\beta$ 1 $\rightarrow$ 1')].

La fonction amine est amidifiée par un acide gras de nature variable, saturé ou monoinsaturé, à nombre pair de carbones (entre 16 et 24), pouvant comporter une fonction hydroxyle.

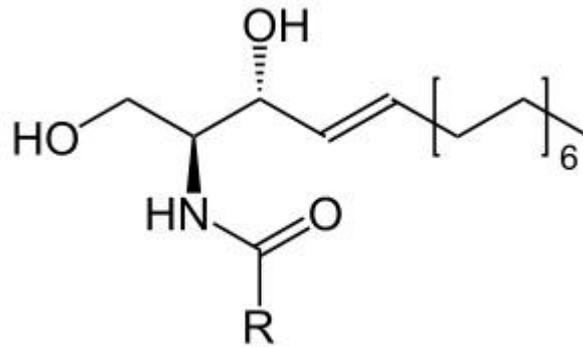


Figure 7 : Structure du céramide

Le Gb3 présente ainsi une hétérogénéité due aux espèces moléculaires différentes d'acides gras, et à un moindre degré, des bases sphingoïdes entrant dans sa constitution. Cette hétérogénéité est variable selon les tissus.

### **1. Prélèvement**

Une miction complète doit être recueillie dans un flacon stérile et conservée à température ambiante. La miction s'effectue de préférence le matin. Si l'analyse du prélèvement se fait plusieurs jours après le recueil, il doit être conservé au réfrigérateur.

### **2. Extraction du Gb3**

Un millilitre d'urine est prélevé, puis mélangé à 470 pmoles de N-heptadecanoyl céramide trihéxoside (utilisé comme standard interne) et à 5 mL d'un mélange de chloroforme/méthanol 1 : 2. Le tout est homogénéisé et centrifugé puis le surnageant est évaporé sous azote. L'échantillon est repris par des solvants organiques. Le Gb3 est fixé sur une colonne de silice greffée octadecyl. Après dessalage le Gb3 est élué. Les éluats sont ensuite évaporés sous azote et repris par la phase mobile chloroforme/méthanol 2 : 1.

### **3. Analyse par spectrométrie de masse en tandem**

Chaque isoforme du Gb3 est analysé par sa transition propre et quantifié par un logiciel, en fonction du signal du standard interne. Le Gb3 total, la somme de l'ensemble des isoformes, est rapporté à la créatinine. Les résultats sont exprimés en nmol/mmol de créatinine. Le rapport des isoformes C24 : 0/C18 : 0 est également calculé.

#### **4. Résultats de l'étude**

Une étude menée chez 84 hommes et 268 femmes a permis d'établir des valeurs de référence pour l'excrétion du Gb3 urinaire et le rapport C24/C18.

Parmi les sujets masculins, 35 présentaient un déficit en  $\alpha$  gal A et étaient donc atteints de maladie de Fabry, les 49 autres étaient considérés comme témoins. Chez les femmes, 66 étaient atteintes de la maladie de Fabry (confirmé par génotypage), les 202 autres étaient considérées comme témoins.

Les valeurs obtenues chez les femmes témoins sont retenues comme valeurs de référence pour les deux sexes, soit  $< 18$  nmol/mmol de créatinine pour le Gb3 et  $< 1,6$  pour le rapport C24/C18.

##### **A. Hommes hémizygotés**

Les sujets masculins atteints de forme classique de maladie de Fabry présentent une excrétion extrêmement élevée de Gb3 (153 à 865 nmol/mmol de créatinine) et une très forte élévation du rapport C24/C18 (4,1 à 10) mettant en évidence une plus grande accumulation de l'isoforme C24 dans les cellules tubulaires rénales.

Les patients atteints d'une forme variante de la maladie présentent une excrétion modérément augmentée du Gb3 urinaire (8,9 à 41,3 nmol/mmol de créatinine) ainsi qu'un rapport C24/C18 peu élevé (0,5 à 3,8). Cela confirme qu'une activité enzymatique résiduelle est présente dans les leucocytes, limitant l'accumulation du Gb3 dans les cellules tubulaires rénales.

##### **B. Femmes hétérozygotés**

Les femmes atteintes de forme classique de la maladie, présentent une élévation plus modérée de l'excrétion du Gb3 urinaire que les hommes (11,9 à 81,4 nmol/mmol de créatinine) ou une excrétion normale de Gb3. Le rapport C24/C18 est lui aussi normal ou modérément augmenté (0,75 à 9,6).

Il existe cependant dans l'étude un recouvrement des valeurs obtenues chez les femmes témoins et chez les hétérozygotes, ce qui prouve que le diagnostic de la maladie de Fabry ne peut être fait sur le seul dosage du Gb3 urinaire.

Les patientes atteintes d'une forme variante de la maladie ont le plus souvent une excrétion de Gb3 urinaire et un rapport C24/C18 dans les valeurs de référence. Dans ces cas-là, la maladie de Fabry est souvent sous diagnostiquée. Une étude du gène GLA permet d'identifier de façon fiable les femmes hétérozygotes quand la mutation familiale est connue.

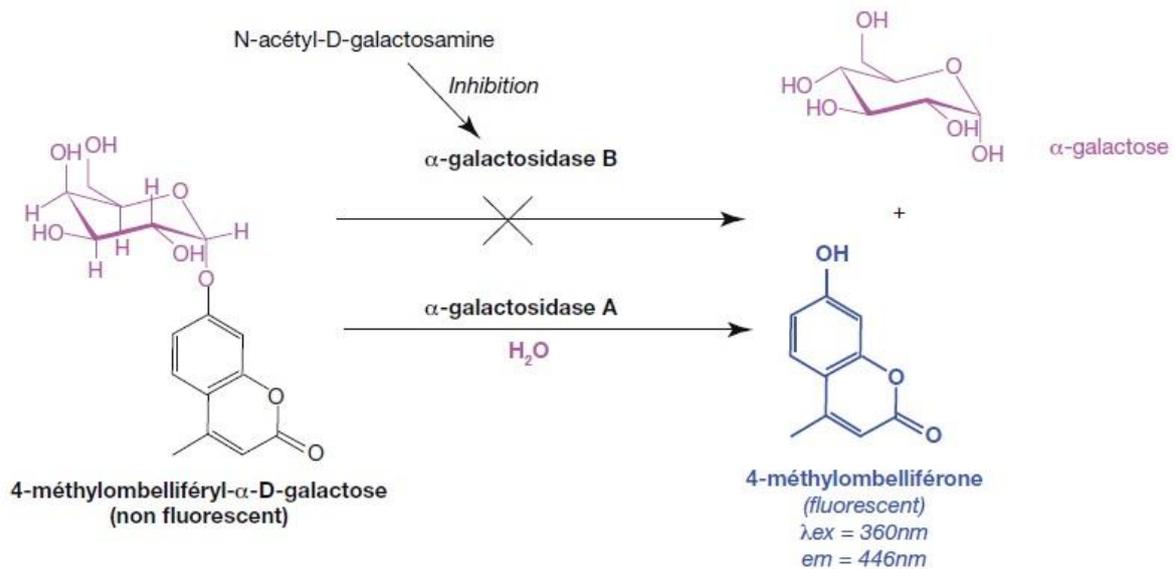
### **5. Suivi de traitement**

Le dosage du Gb3 urinaire peut être utilisé pour le suivi d'un traitement par enzymothérapie substitutive. Dans la plupart des cas, une nette diminution de l'excrétion du Gb3 urinaire et du rapport C24/C18 est observée, jusqu'à parfois une normalisation sur plusieurs années (Piraud *et al* 2010).

## **2. Dosage de l'activité enzymatique**

L'activité enzymatique de l' $\alpha$  gal A se mesure dans le sang. Quelques gouttes de sang sont déposées sur un papier filtre puis séchées.

Après séchage, un disque de 3 mm de diamètre est prélevé au centre de l'échantillon, ce qui correspond à 5,5  $\mu$ L de sang. Dans un microtube, le disque de papier prélevé est ajouté, de même qu'un substrat synthétique non fluorescent la 4-méthylombelliferyl- $\alpha$ -D-galactose ainsi qu'un inhibiteur sélectif de l'alpha galactosidase B, la N-acétyl-D-galactosamine. Le tube est agité puis incubé à 37°C pendant 20 heures. Le produit de l'hydrolyse de la 4-méthylombelliferyl- $\alpha$ -D-galactose par l' $\alpha$  gal A est la 4-méthylombelliférone qui elle est fluorescente (Figure 8).



**Figure 8** : Principe de la mesure de l'activité enzymatique de l' $\alpha$ -gal A en présence de 4-méthylumbelliféryl- $\alpha$ -D-galactose et de N-acétyl-D-galactosamine. (Caudron *et al* 2010)

Dans la méthode originale (Chamoles N.A. *et al* 2001), la réaction enzymatique est arrêtée par addition d'une solution aqueuse alcaline d'éthylène diamine. Aux pH alcalins, l'activité enzymatique de l' $\alpha$  gal A est stoppée et la fluorescence de la 4-méthylumbelliférone est optimale pour un pH compris entre 10,1 et 11,0. Cependant, un milieu très alcalin provoque l'ouverture du noyau coumarinique de la 4-méthylumbelliférone et aboutit à une forme non fluorescente de la molécule qu'il convient d'éviter.

Une autre méthode d'arrêt de la réaction enzymatique existe. Elle associe l'ajout d'EDTA et une solution d'hydroxyde de zinc. Cette dernière va permettre la précipitation des protéines ( $\alpha$  gal A et protéines inhibant la fluorescence) en maintenant un pH constant de 10,4.

Après arrêt de la réaction, le mélange est centrifugé et le surnageant prélevé. La 4-méthylumbelliférone se retrouve dans le surnageant et sa fluorescence peut être mesurée. L'activité enzymatique est exprimée en  $\mu\text{mol}$  de substrat hydrolysé par heure d'incubation en présence de substrat et par litre de sang ( $\mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

En utilisant la méthode originale d'arrêt de la réaction enzymatique, il a été constaté des fluctuations de la fluorescence sur des solutions de lecture obtenues à partir de disque de papier filtre d'un même prélèvement. Ces variations peuvent être dues à la présence de certaines protéines du prélèvement biologiques, responsables d'un effet d'auto-absorption

du faisceau lumineux. C'est donc la technique la plus fiable utilisant l'hydroxyde de zinc qui est maintenant utilisé dans des protocoles cliniques de dépistage (Caudron *et al* 2010) [L1 chapitre 18].

### 3. Analyse moléculaire du gène GLA

L'analyse du gène GLA permet de confirmer le diagnostic. La mutation responsable de la maladie va être mise en évidence après séquençage complet des 7 exons et des jonctions introns-exons.

La recherche de la mutation nécessite tout d'abord une amplification du gène par PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne). L'ADN des patients est isolé des leucocytes provenant du sang périphérique. L'ADN est dénaturé par la chaleur, puis des amorces spécifiques s'hybrident de part et d'autres de la séquence à amplifier. Une ADN polymérase permet l'extension des amorces et synthétise des copies de la séquence d'ADN cible (Figure 9). La taille des exons du gène GLA (92 à 291 paires de bases) permet l'amplification par PCR qui est possible jusqu'à 5000 paires de bases.

Les mutations connues sont recherchées par séquençage de la partie du gène concernée. Séquencer un gène consiste à déterminer l'ordre d'enchaînement de ces nucléotides. L'ADN à séquencer, les nucléotides A, T, G et C ainsi que 4 didésoxyribonucléotides (nucléotides privés du groupement OH en position 3' qui interrompent la synthèse d'ADN lors de leur incorporation), une amorce et de l'ADN polymérase sont mis en présence en grande quantité. L'ADN polymérase va utiliser les nucléotides présents dans le milieu pour copier le brin d'ADN et ainsi synthétiser une séquence d'ADN complémentaire. Lorsque l'ADN polymérase incorpore un didésoxynucléotide dans la chaîne de synthèse, celle-ci s'interrompt. Chaque didésoxynucléotide est marqué par un fluorochrome différent. Un grand nombre de réaction de synthèse ont lieu, il va donc être synthétisé des fragments de toutes tailles mais ayant tous le même point de départ (amorce d'une seule sorte utilisée). Il est alors possible de séparer les chaînes d'ADN obtenues en fonction de leur taille, par électrophorèse capillaire. Plus les chaînes sont courtes, plus elles migrent loin, et tous les fragments d'une même taille migrent à la même distance. On obtient une succession de bandes fluorescentes, correspondant pour chacune d'elle au dernier nucléotide incorporé. Le fragment copié peut être détecté automatiquement par un système optique à la fin de sa

migration dans l'appareil d'électrophorèse, nommé séquenceur. Le signal obtenu quand les copies ont achevé leur migration est interprété par un programme informatique qui reconstitue la séquence originale du fragment d'ADN analysé [17].

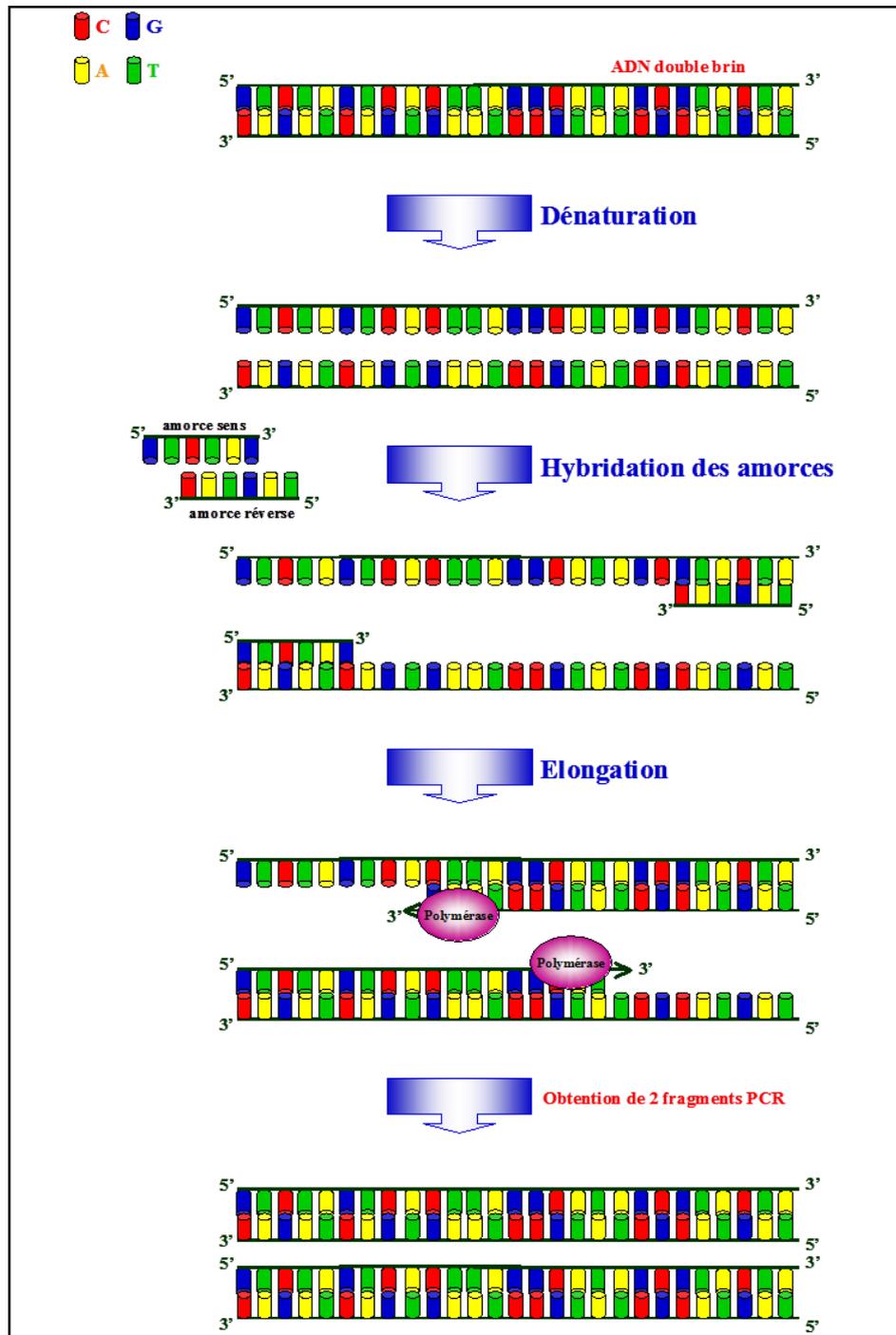


Figure 9 : Amplification d'un gène par PCR

## 4. Diagnostic histologique

Des biopsies (cutanées, rénales, endomyocardiques ...) peuvent être effectuées pour mettre en évidence une surcharge lipidique caractéristique de la maladie de Fabry (Lidove *et al* 2007). Après une biopsie d'organe, s'il est observé au microscope électronique une microvacuolisation cellulaire et des inclusions denses intracellulaires ou des figures myéliniques, il y a alors confirmation du diagnostic de la maladie de Fabry (Barbey *et al* 2000). Les biopsies, notamment rénales, permettent de juger de la sévérité des lésions et donc de prédire le pronostic. Elles peuvent aussi évaluer l'efficacité d'un traitement enzymatique substitutif (Gubler 2010).

## 5. Diagnostic néonatal

Les patients atteints de la maladie de Fabry souhaitant avoir des enfants peuvent être aidés par deux moyens pour connaître le statut de cet enfant :

- Le diagnostic préimplantatoire (DPI) : pour cela il est nécessaire de recourir à une procréation médicalement assistée (Fécondation *in vitro*). L'étude génétique est effectuée le deuxième jour après la fécondation à partir d'une cellule unique. Seuls les embryons sains sont réimplantés dans l'utérus.

Trois centres en France proposent cette technique : Paris, Strasbourg et Montpellier.

- Le diagnostic prénatal (DPN) : il se fait quand la grossesse est spontanée. A partir de 8 semaines d'aménorrhée, le sexe du bébé peut être déterminé par prélèvement de sang maternel. Si c'est un garçon, une biopsie de villosités choriales peut être proposée à 12 semaines d'aménorrhée et un dosage enzymatique couplé à une recherche de mutation est effectué. Si la maladie de Fabry est confirmée, une interruption médicale de grossesse sera discutée avec les parents (HAS 2010).

Le dépistage néonatal est un dépistage de masse destiné à toucher tous les nouveau-nés d'un pays dans le but de détecter une ou plusieurs affections le plus souvent héréditaires, à des fins de préventions secondaires.

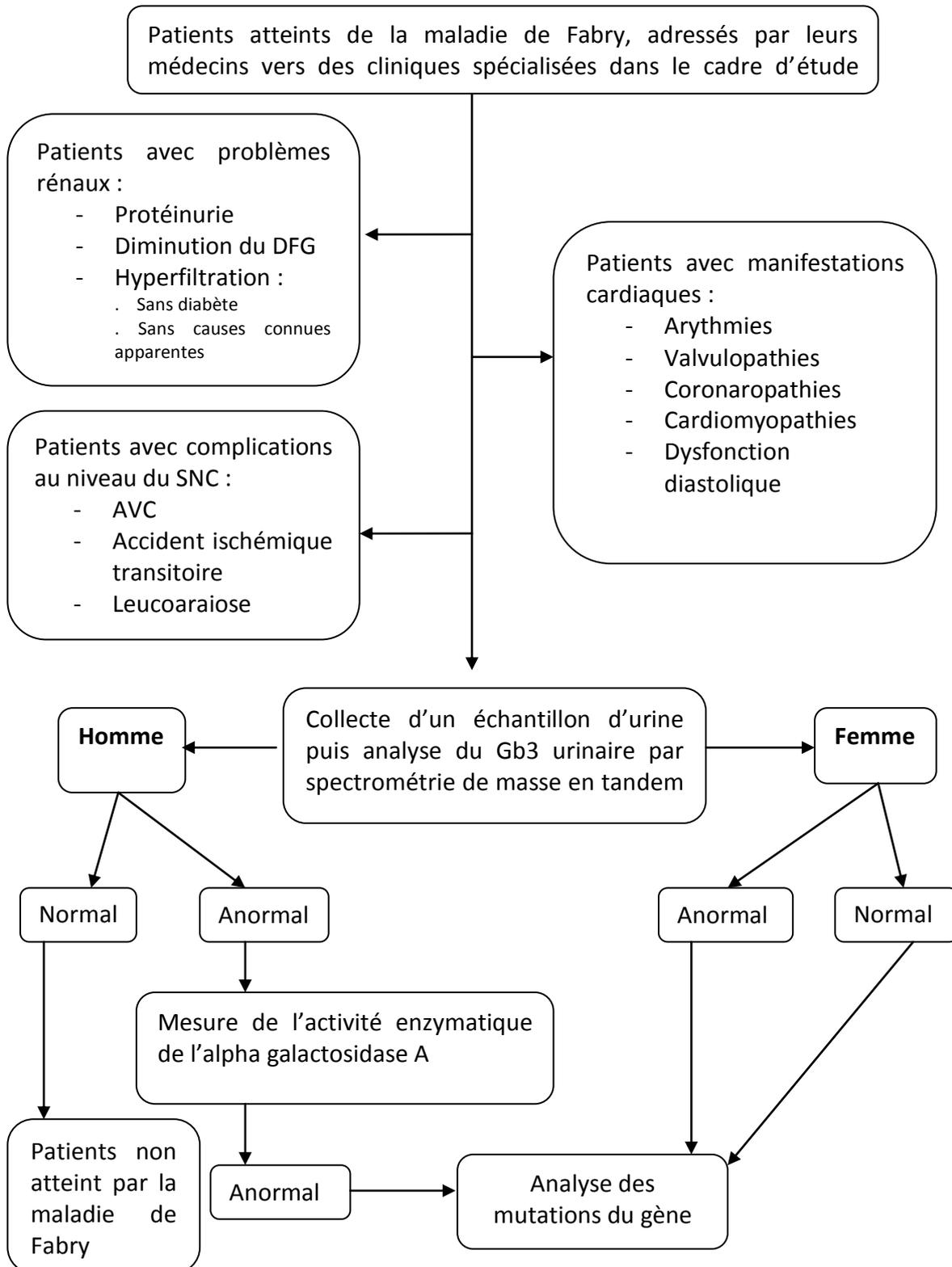
Actuellement, en France, la maladie de Fabry ne fait pas partie des maladies dépistées systématiquement à la naissance. En revanche si un des parents est atteint par la maladie et

qu'aucun test n'a été réalisé durant la grossesse, le diagnostic se fait par dosage enzymatique après prise de sang chez l'enfant, couplé à une analyse génétique pour mettre en évidence la mutation.

Ces dernières années, avec le développement d'appareils comme la spectrométrie de masse, le dépistage systématique à la naissance de nombreuses maladies héréditaires dont la maladie de Fabry, pourrait être facilité (Ardaillou *et al* 2007).

## 6. Résumé

L'arbre décisionnel suivant permet de résumer la marche à suivre lors du diagnostic de la maladie de Fabry (Auray-Blais *et al* 2009) :



## IV. Traitement et surveillance

La maladie de Fabry est reconnue comme affection longue durée : maladie héréditaire du métabolisme nécessitant un traitement spécialisé prolongé.

### 1. Surveillance des atteintes organiques

Que le patient ait un traitement ou non, la surveillance des organes les plus touchés par la maladie de Fabry doit être régulière.

Les facteurs de risque cardiovasculaire sont évalués : consommation de tabac, d'alcool, sédentarité. Un bilan lipidique est effectué avec mesure du cholestérol total, HDL, LDL-cholestérol, triglycérides ainsi que de la glycémie. Les constantes (taille, poids, pression artérielle, indice de masse corporelle, température) sont mesurées lors de chaque examen. Les symptômes douloureux sont estimés grâce à une échelle visuelle analogique (EVA) de la douleur ou à un questionnaire sur la douleur comme le « brief pain inventory » (BPI) (Annexe 1). Cette évaluation au cours du temps permet de mesurer l'efficacité des traitements mis en place s'il y en a. La qualité de vie du patient est aussi évaluée grâce à un questionnaire traitant de l'état physique et mental du patient : le *short form 36* (Annexe 2).

L'atteinte rénale est particulièrement suivie tout comme la fonction cardiaque, car elles sont fréquentes et invalidantes : évaluation du débit de filtration glomérulaire (DFG), recherche d'une micro-albuminurie, d'une protéinurie, échographie pour surveiller la taille des reins et la présence de kystes. Pour la recherche de cardiomyopathie hypertrophique, de complication valvulaire ou de troubles du rythme, on réalise un électrocardiogramme voire un IRM cardiaque pour une mesure plus précise de la masse cardiaque.

Des complications ophtalmologiques sont recherchées par examen du fond d'œil, mesure de l'acuité visuelle et examen à la lampe à fente (mise en évidence de la cornée verticillée). Enfin, l'audiogramme permet la surveillance et le dépistage des troubles auditifs (Lidove *et al* 2007).

## 2. Traitement symptomatique

Le traitement des différents symptômes de la maladie va apporter au patient un confort de vie et lui permettre d'améliorer son quotidien. Cependant, tous les symptômes ne peuvent être traités.

Les acroparesthésies sont traitées par des médicaments anticonvulsivants comme la carbamazépine, la gabapentine ou encore la phénytoïne. Les antalgiques n'ont que très peu d'effet sur ces douleurs.

Un traitement associant un inhibiteur de l'enzyme de conversion (IEC) et un diurétique thiazidique peut réduire le risque d'AVC. Dans les cas où un AVC survient, un traitement par antiagrégant plaquettaire et une statine sera instauré. La pose d'un pace-maker peut être envisagée chez les patients souffrant de troubles du rythme.

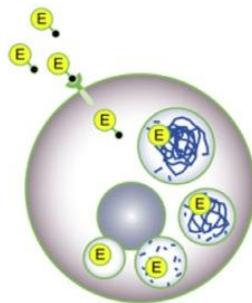
Une greffe rénale doit être envisagée en cas d'insuffisance rénale sévère. La survie du greffon est comparable à celle observée chez les patients transplantés dans la population générale.

Pour pallier aux troubles auditifs, des prothèses peuvent être posées ou, en cas de surdité profonde, un implant cochléaire (Lidove *et al* 2007).

## 3. Traitement enzymatique

### 1. Principe

L'enzyme recombinante entre dans la cellule grâce aux récepteurs du mannose-6-phosphate sur lesquels elle se fixe. Elle est ainsi adressée spécifiquement dans le lysosome où elle permettra la destruction du Gb3 accumulé (Figure 10).



**Figure 10** : Principe de fonctionnement de l'enzymothérapie substitutive (Valayannopoulos *et al* 2011)

## ***2. Traitements disponibles en France***

Les deux spécialités utilisées en France sont Replagal® (agalsidase  $\alpha$ ) et Fabrazyme® (agalsidase  $\beta$ ). Elles disposent d'une AMM les ayant classées en réserve hospitalière. Leur prescription est restreinte aux médecins hospitaliers et leur délivrance aux pharmacies à usage intérieur.

Ces deux spécialités sont produites par génie génétique. Elles présentent toutes les deux, la même séquence en acide aminé que l' $\alpha$  gal A. Replagal® et Fabrazyme® diffèrent dans leur structure par leurs chaînes oligosaccharidiques (Ferverza *et al* 2008).

### **A. Agalsidase $\alpha$ : Replagal® : Résumé des caractéristiques du produit**

Ce médicament est commercialisé par le laboratoire Shire Human Genetic Therapies.

#### **a. Indications**

Replagal® est indiqué dans les enzymothérapies substitutives à long terme, lorsque le diagnostic médical a permis de confirmer la présence de la maladie de Fabry et donc le déficit en  $\alpha$  gal A chez les patients.

#### **b. Mécanisme d'action**

L'agalsidase  $\alpha$  catalyse l'hydrolyse du Gb3. Il y a formation de lactosylcéramide et de galactose. L'administration de l'enzyme réduit l'accumulation de Gb3 dans de nombreuses cellules, notamment endothéliales et parenchymales.

#### **c. Mode de fabrication**

L'agalsidase  $\alpha$  est la protéine humaine  $\alpha$  gal A produite par génie génétique dans une lignée cellulaire humaine (fibroblaste).

#### **d. Posologie et mode d'administration**

Le traitement par Replagal® doit être supervisé par un médecin expérimenté dans la prise en charge de la maladie de Fabry ou d'autres maladies métaboliques héréditaires.

Replagal® doit être administré par doses de 0,2 mg/kg de poids corporel, une semaine sur deux, par perfusion intraveineuse de 40 minutes. Replagal® ne doit pas être perfusé sur la même ligne de perfusion que d'autres agents, en l'absence d'étude de compatibilités.

Le volume total de la solution Replagal® est à diluer dans 100 mL d'une solution pour perfusion de chlorure de sodium à 9 mg/mL (0,9%). Les mesures d'asepsie lors de la reconstitution doivent être respectées pour garantir la stérilité des solutions préparées. Replagal® ne contient ni conservateur ni agent bactériostatique. De ce fait, il est recommandé de pratiquer la perfusion au plus tôt une fois la dilution effectuée. Avant administration, il est recommandé d'effectuer un contrôle visuel de la solution afin de vérifier l'absence de particules ou une éventuelle décoloration.

Chez les sujets de plus de 65 ans ainsi que chez les sujets atteints d'insuffisance hépatique, aucune étude n'a été menée. Aucun schéma posologique ne peut donc être recommandé.

Chez les sujets atteints d'insuffisance rénale, aucun ajustement de dose n'est nécessaire. Cependant, la présence d'une lésion rénale étendue (DFG < 60 mL/min) peut limiter la réponse rénale à l'enzymothérapie de substitution.

Chez les enfants, aucun schéma posologique n'est recommandé entre 0 et 6 ans. La sécurité et l'efficacité ne sont pas suffisamment établies pour cette tranche d'âge. En revanche, pour les enfants de 7 à 18 ans, les données cliniques sont limitées mais aucun problème de sécurité n'a été rencontré au cours de 6 mois de l'étude du Replagal® administré à 0,2 mg/kg. Ce schéma posologique est donc recommandé pour cette tranche d'âge.

#### **e. Interactions**

Replagal® ne doit pas être associé à la chloroquine, à l'amiodarone, au monobenzone ou à la gentamicine. Ces substances ont le pouvoir d'inhiber l'activité intracellulaire de l' $\alpha$  galactosidase.

#### **f. Effets indésirables**

Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés au cours des études cliniques sont des réactions d'intolérance à la perfusion. Ces réactions sont apparues chez 13,7% des patients traités par Replagal®.

Chez 177 patients traités par Replagal® dans le cadre d'études cliniques, différents effets indésirables ont été répertoriés. Ces derniers sont relatés dans le tableau ci-dessous, classés par système d'organe et par fréquence.

Parmi les patients des études cliniques, 21 patients présentaient des antécédents de maladie rénale en phase terminale, 24 étaient des patients pédiatriques (7 à 17 ans) et 17 étaient des patientes de sexe féminin.

	<b>Très fréquents</b>	<b>Fréquents</b>	<b>Peu fréquents</b>
<b><i>Système nerveux</i></b>	Céphalées	Vertiges, dysgueusies, douleurs neuropathiques, tremblements, hypersomnies, hypoesthésie, paresthésie	Parosmie
<b><i>Système oculaire</i></b>		Réflexe cornéen diminué, augmentation de la sécrétion lacrymale	
<b><i>Système auditif</i></b>		Acouphènes	
<b><i>Système cardiaque</i></b>		Tachycardie, palpitations	
<b><i>Système vasculaire</i></b>	Bouffées congestives	Hypertension	
<b><i>Système respiratoire</i></b>		Toux, enrouements, dyspnée, pharyngite, Sensation de gorge serrée, rhinorrhée	Saturation en oxygène diminuée
<b><i>Système gastro-intestinale</i></b>	Nausées	Diarrhée, vomissements, douleurs abdominales	
<b><i>Peau et Tissu sous-cutané</i></b>			Acné, érythème, prurit, rash, œdème angioneurotique, urticaire
<b><i>Muscle squelettique et systémique</i></b>		Gêne musculo-squelettique, myalgie, dorsalgie, œdèmes périphériques, arthralgie, tuméfaction articulaire, sensation de lourdeur	

<b>Trouble du métabolisme et de la nutrition</b>		Œdèmes périphérique	
<b>Troubles généraux et anomalies du site d'administration</b>	Frisson, fièvre, douleur, fatigue, sensation de chaud, sensation de froid, asthénie	Douleurs thoraciques, oppression thoracique, syndrome grippal, rash au point d'injection, malaises	

Dans la population pédiatrique (enfants et adolescents) les effets indésirables étaient similaires à ceux rapportés chez l'adulte. Cependant, les réactions liées à la perfusion (pyrexie, dyspnée, douleurs thoraciques) et l'exacerbation de la douleur étaient plus fréquentes.

### **g. Contre-indications**

Une hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients contre-indique le Replagal®.

### **h. Efficacité et tolérance clinique**

Chez 40 patients diagnostiqués avec une maladie de Fabry, une étude randomisée en double aveugle, contrôlée par *placebo*, a évalué l'efficacité et la sécurité du Replagal®.

Après 6 mois de thérapie, on observe une réduction significative de la douleur chez les patients sous Replagal® par rapport à ceux sous *placebo*. L'utilisation chronique de médicaments contre les douleurs neuropathiques et le nombre de jours pendant lesquels les patients prenaient des médicaments antalgiques a diminué significativement.

Chez les enfants, on observe une diminution de la douleur après 9 à 12 mois de traitement par Replagal®, avec une persistance sur 4 ans.

Après 6 mois de thérapie, la fonction rénale des patients traités est stabilisée, contrairement à celle des patients sous *placebo* qui a décliné. Après 12 à 18 mois de traitement par Replagal®, on observe une amélioration du taux de filtration glomérulaire mesuré par la clairance de l'inuline. Un traitement à long terme (48 à 54 mois) a permis une stabilisation du taux de filtration glomérulaire chez les patients de sexe masculin qui présentait une fonction rénale normale ou une insuffisance rénale légère à modérée. Chez les insuffisants

rénaux plus sévères on observe un ralentissement de la progression vers la phase terminale de la maladie rénale.

Après 6 mois de thérapie, chez 15 patients présentant une hypertrophie ventriculaire gauche liée à la maladie de Fabry, on constate par un examen de résonance magnétique (IRM) une diminution de 11,5 g de la masse du ventricule gauche, contrairement à une augmentation de 21,8 g chez les patients sous *placebo*.

Une amélioration de la contractilité, une diminution de la durée de QRS moyenne et une diminution de l'épaisseur septale mesurée par échographie sont liés au traitement par Replagal®.

Après 6 mois de thérapie, l'accumulation du Gb3 a diminué d'environ 20 à 50% dans le plasma, le sédiment urinaire et le foie ainsi que dans les échantillons de biopsie du rein et du cœur. Après 12 à 18 mois de traitement, la diminution de Gb3 est de 50 à 80% dans le plasma et le sédiment urinaire. De ce fait, les patients ont vu leur taux de sudation augmenter.

Chez les enfants de plus de 7 ans, de sexe masculin, l'hyperfiltration est le signe le plus précoce d'un problème rénal. Suite à l'administration une semaine sur deux de 0,2 mg/kg de Replagal® pendant un an, une diminution du débit de filtration glomérulaire a été mise en évidence, puis une stabilisation de ces valeurs pendant les quatre années de traitement qui ont suivi (Avis de la commission de la transparence, Février 2002).

#### **i. Mode et durée de conservation**

Le produit non ouvert doit être conservé entre 2°C et 8°C. La durée de conservation est de 2 ans. La stabilité physique et chimique du produit en cours d'utilisation a été démontrée pendant 24 heures à 25°C.

#### **j. Coût du traitement**

Le prix d'un flacon de 3,5 mg est de 1600€ HT [I15].

Par exemple, pour un homme de 70 kg, le traitement nécessite l'administration de 4 flacons par injection, tous les 15 jours. Le coût de revient annuel est d'environ 166400€ HT.

## **B. Agalsidase $\beta$ : Fabrazyme<sup>®</sup> : Résumé des caractéristiques du produit**

Ce médicament est commercialisé par le laboratoire Genzyme.

### **a. Indications**

Fabrazyme<sup>®</sup> est indiqué en tant que traitement enzymatique substitutif à long terme chez les patients présentant un diagnostic confirmé de la maladie de Fabry.

Fabrazyme<sup>®</sup> est indiqué chez les adultes, les adolescents et les enfants de plus de 8 ans.

### **b. Mécanisme d'action**

Fabrazyme<sup>®</sup> catalyse l'hydrolyse de glycosphingolipides et notamment de Gb3. Ce médicament fournit une source exogène d' $\alpha$  gal A aux patients atteints de la maladie de Fabry.

### **c. Mode de fabrication**

L'agalsidase  $\beta$  est une forme recombinante humaine d' $\alpha$  gal A, produite par la technique de l'ADN recombinant dans une lignée cellulaire CHO (chinese hamster ovary). La séquence des aminoacides de la forme recombinante, ainsi que la séquence nucléotidique qui l'a encodée, sont identiques à la forme naturelle de l' $\alpha$  gal A.

### **d. Posologie et mode d'administration**

Le traitement par Fabrazyme<sup>®</sup> doit être supervisé par un médecin expérimenté dans la prise en charge de la maladie de Fabry ou d'autres maladies métaboliques héréditaires.

La dose recommandée de Fabrazyme<sup>®</sup> est d' 1 mg/kg de poids corporel, administrée une fois toutes les deux semaines par perfusion intraveineuse. La vitesse de perfusion initiale ne doit pas dépasser 0,25 mg/min afin de minimiser la survenue de réactions liées à la perfusion.

Chaque flacon de Fabrazyme<sup>®</sup> 35 mg est à reconstituer avec 7,2 mL d'eau pour préparation injectable. Celle-ci doit être ajoutée goutte à goutte le long de la paroi du flacon pour éviter la formation de mousse. La solution reconstituée doit être transparente, incolore et sans particules.

Fabrazyme<sup>®</sup> ne doit pas être mélangé avec d'autres médicaments dans la même perfusion, devant l'absence d'étude de compatibilités.

### e. Interactions

Fabrazyme® ne doit pas être associé à la chloroquine, l'amiodarone, le monobenzone et la gentamicine.

### f. Effets indésirables

Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés au cours des études cliniques sont les suivants : frissons, pyrexie, sensations de froid, nausées, vomissements, céphalées et paresthésies. De plus, des réactions associées à la perfusion sont recensées chez 67% des patients de l'étude.

Chez 168 patients traités avec au minimum une perfusion de Fabrazyme® à la posologie de 1mg/kg toutes les deux semaines pendant au maximum 5 ans, dans le cadre d'études cliniques, différents effets indésirables ont été répertoriés. Ces derniers sont relatés dans le tableau ci-dessous, classés par système d'organe et par fréquence.

	<b>Très fréquent</b>	<b>Fréquent</b>	<b>Peu fréquent</b>
<b><i>Système nerveux</i></b>	Céphalées, paresthésies	Etourdissements, sommolence, hypoesthésie, sensation de brûlure, léthargie, syncope	Hyperesthésie, tremblements
<b><i>Système oculaire</i></b>		Larmoiement accru	Prurit, hyperémie oculaires
<b><i>Système auditif</i></b>		Acouphènes, vertiges	Gonflement auriculaire, otalgie
<b><i>Système cardiaque</i></b>		Tachycardie, palpitations, bradycardie	Bradycardie sinusale
<b><i>Système vasculaire</i></b>		Bouffées vasomotrices, hypertension, pâleur, hypotension, bouffées de chaleur	Refroidissement des membres
<b><i>Système respiratoire</i></b>		Dyspnée, congestion nasale, constriction pharyngée, respiration sifflante, toux, dyspnée exacerbée	Bronchospasme, douleur pharyngolaryngée, rhinorrhée, tachypnée, congestion des voies respiratoires

<b><i>Système gastro-intestinale</i></b>	Nausées, vomissements	Douleurs abdominales, gêne abdominale et gastrique, hypoesthésie buccale, diarrhée	Dyspepsie, dysphagie
<b><i>Peau et Tissu sous-cutané</i></b>		Prurit, urticaire, éruption cutanée, érythème, prurit généralisé, œdème de Quincke, gonflement du visage, éruption maculo-papuleuse	Eruption cutanée érythémateuse, éruption cutanée pruritique, décoloration cutanée, gêne cutanée
<b><i>Muscle squelettique et systémique</i></b>		Douleur des extrémités, myalgie, dorsalgie, spasmes musculaires, arthralgie, constriction musculaire, raideur musculosquelettique	Douleurs musculo-squelettique
<b><i>Infections et infestations</i></b>		Rhino-pharyngite	Rhinite
<b><i>Troubles généraux et anomalies du site d'administration</i></b>	Frissons, pyrexie, sensation de froid	Fatigue, gêne thoracique, sensation de chaleur, œdème périphérique, douleurs, asthénie, douleur thoracique, œdème facial, hyperthermie	Sensation de chaleur et de froid, syndrome grippal, douleur au point de perfusion, réaction au point de perfusion, thrombose au point d'injection, malaise, œdème

### **g. Contre-indications**

Une hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients contre-indique le Fabrazyme®.

### **h. Efficacité et tolérance clinique**

Plusieurs études cliniques contrôlées *vs placebo* ont évalué l'efficacité et la sécurité du Fabrazyme®.

La première comprenait 49 patients et a permis de constater après 20 semaines de traitement une élimination de Gb3 de l'endothélium vasculaire rénal chez 69% des individus ayant reçu le médicament. Aucune amélioration n'a été observée chez ceux recevant le *placebo*. Lors de l'extension de cette étude, les 49 patients ont continué à recevoir des injections de Fabrazyme®. L'élimination du Gb3 de l'endothélium vasculaire rénal était de 96% à 6 mois. Les concentrations plasmatiques de Gb3 se sont normalisées et sont restées stables après 5 ans de traitement.

Toutefois, chez les patients présentant une maladie rénale avancée, l'effet du traitement par Fabrazyme® était limité.

La deuxième étude, réalisée en double aveugle, comprenait 82 patients. Elle a évalué la réduction du taux de survenue d'une affection rénale, cardiaque, cérébrovasculaire ou de décès par Fabrazyme®. La réduction du risque de survenue était de 53% dans la population en intention de traiter (Les résultats de tous les participants de l'étude sont pris en compte même ceux n'ayant pas entièrement achevé le protocole).

Dans la population pédiatrique, 16 patients âgés de 8 à 16 ans (14 garçons et 2 filles) ont été traités pendant 48 semaines à la posologie de 1 mg/kg toutes les deux semaines. Au début de l'étude, les 14 garçons présentaient un taux élevé de Gb3 dans le plasma contrairement aux deux filles qui elles avaient un taux normal. Douze des garçons présentaient des inclusions de Gb3 au niveau de l'endothélium vasculaire cutané superficiel.

Après 24 semaines de traitement, tous les garçons ont vu leur taux de Gb3 dans le plasma revenir à la normale, et ceux présentant des inclusions les ont vues disparaître. Après 48 semaines de traitement les constats étaient les mêmes.

Chez les filles, il n'y a pas eu d'augmentation du taux de Gb3 après 48 semaines de traitement.

#### **i. Mode et durée de conservation**

Le produit non ouvert doit être conservé entre 2°C et 8°C. La durée de conservation est de 3 ans. Après reconstitution, le produit doit être utilisé immédiatement. La solution reconstituée doit être rapidement diluée dans le chlorure de sodium à 0,9%. Seule la solution diluée peut être conservée jusqu'à 24 heures entre 2°C et 8°C [19].

## **j. Coût du traitement**

Le prix d'un flacon de 35 mg est de 3202 € HT.

Par exemple, pour un homme de 70 kg, le traitement nécessite l'administration de 2 flacons par injection toutes les deux semaines. Le coût de revient annuel est d'environ 166500€ HT [116].

## **3. Efficacité de l'enzymothérapie sur différents symptômes**

### **1. Effets sur le cœur**

Chez des enfants et jeunes adultes, l'enzymothérapie substitutive permet de limiter le développement des atteintes cardiaques décrites précédemment. Chez des patients plus âgés ayant déjà des atteintes cardiaques importantes, l'enzymothérapie permet de stabiliser ces atteintes mais ne permet pas de les faire disparaître (fibrose et destruction des cellules du myocarde) [L1 chapitre 37].

Après analyse des essais cliniques sur le Replagal®, portant sur 26 patients de plus de 18 ans, il a été constaté qu'après 18 à 24 mois de traitement, la masse ventriculaire gauche avait diminué de 9% (Avis de la commission de la transparence, Février 2002).

Cependant, une étude suisse menée en 2008 sur des patients âgés en moyenne de 37 ans sous traitement enzymatique pendant 37 mois montre que l'incidence de l'hypertrophie ventriculaire gauche n'a pas évolué pendant le suivi et que le septum interventriculaire s'est épaissi (0,8 mm). Il a été suggéré que, pour améliorer la fonction myocardique, le traitement doit être administré de manière précoce chez les patients diagnostiqués ou de façon prolongée (Lidove *et al* 2009).

L'avantage le plus important du traitement est la réduction des symptômes cliniques (dyspnée, fatigue, palpitations) rapportés après 6 mois de traitement.

### **2. Effets sur les reins**

Les atteintes rénales dans la maladie de Fabry constituent une importante cause de morbidité et de mortalité prématurées.

Après analyse des essais cliniques sur le Fabrazyme<sup>®</sup>, portant sur 58 patients de plus de 16 ans il a été constaté, qu'après 6 mois de traitement le score d'inclusion du Gb3 dans l'endothélium vasculaire rénal était nul ou presque nul et que la concentration en Gb3 dans les sédiments urinaires avait diminué significativement.

Les essais cliniques sur le Replagal<sup>®</sup>, portant sur 26 patients de plus de 18 ans montre qu'après 6 mois de traitement, il y a une augmentation de la clairance de la créatinine de 2mL/min (contre une diminution de 16 mL/min dans le groupe *placebo*), une augmentation de 21% de la fraction glomérulaire normale (contre une baisse de 27% dans le groupe *placebo*) et une diminution de 30% de la concentration en Gb3 dans les sédiments urinaires. Après 24 mois de traitement, la clairance de la créatinine était maintenue (Avis de la commission de la transparence, Février 2002).

### **3. Effets sur la douleur**

Les douleurs neuropathiques dans l'étude sur le Replagal<sup>®</sup> sont évaluées grâce au questionnaire BPI, qui détermine le pire niveau de douleur ressenti chez le patient la semaine passée. L'échelle de douleur est graduée de 0 à 10.

L'essai monocentrique, portant sur 26 patients de plus de 18 ans traités par Replagal<sup>®</sup> montre une diminution de 1,9 points entre le début et la fin du traitement. Cependant, 18 mois après le début du traitement par Replagal<sup>®</sup>, les scores évaluant la douleur ont ré-augmenté sans toutefois atteindre le score obtenu avant traitement (Avis de la commission de la transparence, Février 2002).

Dans l'étude sur le Fabrazyme<sup>®</sup>, ayant conduit à son AMM, il n'y a pas eu de diminution significative de la douleur entre le groupe traité et le groupe *placebo*. De plus il n'a pas été mis en évidence d'amélioration de la qualité de vie de patients entre les deux groupes.

### ***4. Efficacité de l'enzymothérapie selon les populations***

#### **1. Effets chez les enfants et adolescents**

Fabrazyme<sup>®</sup> est indiqué chez les enfants à partir de 8 ans à la même posologie que l'adulte, soit 1 mg/kg tous les 15 jours.

Replagal® est indiqué chez les enfants à partir de 7 ans à la même posologie que l'adulte, soit 0,2 mg/kg tous les 15 jours.

Une étude portant sur 24 patients âgés en moyenne de 11,8 ans traités par Replagal® pendant 26 semaines a montré plusieurs améliorations : une constance du débit de filtration glomérulaire qui était normal avant traitement, une tendance à l'amélioration de la microalbuminurie chez 4 enfants, la diminution de la consommation d'antalgique, la présence d'une sudation mesurable chez 3 patients présentant une anhydrose totale avant traitement.

Le plus souvent dans cette catégorie de population, les symptômes sont stables ou améliorés, mais de façon non significative. Cela peut être expliqué par une durée trop faible de traitement sur l'étude, un manque de puissance du traitement ou des symptômes faiblement développés.

Une autre étude a été menée sur 16 patients âgés en moyenne de 12,1 ans, traités par Fabrazyme® pendant 48 semaines. Ces enfants présentaient tous au moins deux anomalies liées à la maladie de Fabry : IMC < 20, algies critiques ou chroniques, symptômes gastro-intestinaux, neuropathie végétative avec hypohydrose, PR court sur l'ECG, protéinurie ou insuffisance rénale avec DFG < 80 mL/min.

Les résultats ont montré après 6 mois de traitement une amélioration significative des symptômes gastro-intestinaux et une diminution du débit protéinurique moyen de 118 mg à 77 mg/m<sup>2</sup>. Le débit de filtration glomérulaire n'a pas diminué au cours de l'étude et la masse ventriculaire gauche n'a pas varié significativement.

Le nombre de jours d'absence à l'école a diminué et le pourcentage de jours où les gestes de la vie quotidienne (se lever, se laver, s'habiller ...) étaient difficile à exécuter est passé de 12 à 3%.

Tous ces résultats sont toutefois à nuancer du fait de l'absence de groupe témoin lors de l'étude et du faible effectif. Le bénéfice réel du Fabrazyme® ne peut être apprécié (Lidove *et al* 2009).

## **2. Effets chez les femmes**

Il existe une très importante variation de phénotypes chez les femmes. Elles peuvent être asymptomatiques, présenter des symptômes à des degrés divers ou touchées sévèrement par la maladie.

Concernant les traitements enzymatiques substitutifs, il existe moins de données d'efficacité chez les femmes que chez les hommes.

Une étude de 2011, incluant 78 femmes a permis d'évaluer l'efficacité du Replagal® sur 4 ans. L'évolution d'un ensemble de signes cliniques (27 au total) après 4 ans de traitement ainsi que 4 paramètres cliniques sévères ont été évalués : la douleur, la qualité de vie, la fonction cardiaque et la fonction rénale.

Tout d'abord, le traitement pendant 4 ans par Replagal® chez les femmes a permis de diminuer significativement la masse du ventricule gauche. La fonction rénale a quant à elle peu évolué puisque les valeurs de la clairance de la créatinine sont stables entre le début du traitement et après 4 ans. La douleur et la qualité de vie mesurée par le BPI ne sont pas non plus modifiées après traitement.

L'évolution des 27 signes cliniques évalués au cours des 4 ans de traitement est résumée dans le tableau suivant :

<b><i>Signes cliniques ou Symptômes</i></b>	<b><i>Evolution après 4 ans de traitement</i></b>
Angiokératome	+
Cornée verticillée	+
Douleurs aigües	=
<b>Vertiges</b>	-
Dépression	+
Fatigue	+
<b>Palpitations</b>	-
Hypertension	+
Acouphènes	+
<b>Douleurs chroniques</b>	-
Baisse d'audition	+
Douleurs abdominales	=
<b>Constipation</b>	-
<b>Anomalies de conduction</b>	-
<b>Hypohydrose</b>	-
Difficultés respiratoires/Dyspnée	+
<b>Diarrhée</b>	-
<b>Douleur du corps</b>	-
Nausée	+

Hyperhydrose	=
<b>Arythmie</b>	-
Angine	+
<b>Arthropathie</b>	-
Vomissement	=
<b>Pic de fièvre</b>	-
<b>Anhydrose</b>	-
<b>Symptômes semblable à une claudication</b>	-

(+) : Augmentation de la fréquence du symptôme après 4 ans de traitement

(-) : Diminution de la fréquence du symptôme après 4 ans de traitement

(=) : Stabilisation de la fréquence du symptôme après 4 ans de traitement

Chez certaines patientes, de nouvelles manifestations cliniques sont apparues alors qu'elles étaient absentes avant traitement. Les deux plus fréquentes sont la dépression et la cornée verticillée (Hughes *et al* 2011).

### **5. Tolérance de l'enzymothérapie substitutive**

Les traitements enzymatiques sont en général bien tolérés par les patients. Les effets indésirables les plus rapportés (fièvre, frissons, céphalées, nausées, vomissements, tremblements) sont souvent liés à l'injection des produits médicamenteux, et notamment plus fréquemment avec le Fabrazyme® qui présente une plus grande dose à injecter sur une plus grande durée par rapport au Replagal®. Ces effets peuvent être atténués par l'administration préalable d'anti-histaminiques ou d'anti-inflammatoires ou par la baisse du débit de perfusion (Lidove *et al* 2007).

La plupart des patients développent des anticorps de type IgG dirigés contre l'agalsidase  $\alpha$  et  $\beta$  après environ trois mois de traitement. Ces anticorps sont le plus souvent retrouvés chez les patients traités par agalsidase  $\beta$  (83% des cas contre 55% pour l'agalsidase  $\alpha$ ) et ceci s'expliquerait par la différence de glycosylation de l'enzyme.

Dans les études en vue de l'AMM de Replagal® et Fabrazyme®, ces anticorps ne neutralisaient pas l'activité enzymatique et le taux d'anticorps diminuait au cours du temps jusqu'à parfois disparaître. On parle alors de tolérance immunologique (RCP Fabrazyme® et Replagal®).

Une étude menée sur 822 patients atteints de la maladie de Fabry a permis d'évaluer le développement des anticorps chez les hommes et femmes traités par Fabrazyme®. Les conclusions de cette étude sont les suivantes :

- Les hommes développent plus souvent des anticorps que les femmes (73% contre 12%) car ils possèdent une activité enzymatique résiduelle nulle ou faible contrairement aux femmes hétérozygotes.
- Les anticorps développés dans la population masculine tendent à disparaître (65%) au cours du traitement.
- Le Gb3 présent dans le plasma est plus élevé chez les hommes ayant des anticorps persistants que chez les séronégatifs. Il n'y a pas de différence significative chez les femmes.
- Les réactions associées à la perfusion sont plus nombreuses chez les patients ayant développé des anticorps que chez les séronégatifs. Ces réactions apparaissent le plus souvent dans les six premiers mois de traitement. Elles sont moins rapportées chez les femmes.
- Les patients présentant une mutation non-sens sur le gène codant pour l'enzyme  $\alpha$  gal A développent plus souvent des anticorps que ceux présentant une mutation faux-sens (34/37 vs 29/52).
- Certaines mutations faux-sens (R342Q : arginine en position 342 remplacée par glutamine, P40S, L415P, N34S) sont associées à une séroconversion chez l'homme.

Il est toutefois difficile de détecter et de quantifier les effets des anticorps sur le traitement, étant donné le manque de biomarqueurs significatifs et l'évolution lente et variable de la maladie (Wilcox *et al* 2012).

Il a été rapporté, exceptionnellement, l'apparition d'anticorps IgE chez des patients traités par agalsidase  $\beta$  (Lidove *et al* 2009).

## **6. Conclusion**

L'agalsidase  $\alpha$  (Replagal®) et l'agalsidase  $\beta$  (Fabrazyme®) sont des enzymes recombinantes humaines ayant la structure protéique de l' $\alpha$  gal A humaine.

Le choix de prescription de l'un ou l'autre des deux médicaments repose le plus souvent sur l'habitude des prescripteurs car il est difficile de recommander un médicament plus que l'autre. En effet, les études sur Replagal® reposent essentiellement sur des critères cliniques : diminution des douleurs, amélioration de la fonction rénale et de la fonction cardiaque. Une diminution de l'accumulation de Gb3 plasmatique et urinaire est également évaluée tout comme dans les études sur le Fabrazyme®.

En revanche, dans l'évaluation du Fabrazyme®, aucune amélioration de la qualité de vie ou une diminution des douleurs n'a été prouvée. Les études reposent sur des critères histopathologiques : des biopsies rénales sont effectuées pour évaluer la présence de Gb3 dans les capillaires rénaux.

L'efficacité à court terme est indéniable pour les deux médicaments, cependant le Replagal® est souvent plus prescrit car il a l'avantage de nécessiter un temps de perfusion moindre que Fabrazyme® ce qui permet de limiter les effets secondaires.

## 4. Protéines chaperons

### 1. Principe

Pour qu'une protéine soit active, elle doit adopter une structure tridimensionnelle dite « native » qui correspond à l'état énergétique le plus stable. Le repliement de la protéine peut s'effectuer de façon coordonnée à sa synthèse dans le réticulum endoplasmique (RE). Dans celui-ci, les protéines sont le siège d'un « contrôle qualité ». Quand elles sont mal repliées, elles sont adressées vers le protéasome où elles sont dégradées.

Les protéines chaperons ont pour fonction d'aider au repliement d'autres protéines de la cellule. On les appelle aussi protéines de stress ou protéines de choc thermique (Heat shock proteins : Hsp) car elles sont souvent produites en réponse à un stress cellulaire ou à des variations de température. Les protéines chaperons sont retrouvées dans tous les compartiments cellulaires.

Il existe deux grandes familles de chaperons :

- Les chaperons moléculaires : elles se fixent à des protéines dépliées ou partiellement repliées et les stabilisent pour les empêcher de s'agréger et d'être dégradées.
- Les chaperonines : elles facilitent directement le repliement des protéines [L5].

Des protéines spécifiques (ligand, substrat, inhibiteurs) appelées chaperons pharmacologiques, sont capables de se lier à des protéines défectueuses, de les stabiliser pour leur permettre d'adopter une conformation quasi-native, de récupérer une fonctionnalité et d'échapper au système de « contrôle qualité » du réticulum endoplasmique. Ces molécules peuvent être agonistes, antagonistes ou modulateurs allostériques de leurs récepteurs (Mendre *et al* 2010).

### 2. Utilisation des protéines chaperons dans la maladie de Fabry

Il a été rapporté que le galactose, un des produits de l'hydrolyse enzymatique du Gb3, peut stabiliser la protéine produite après une mutation non-sens sur le gène codant pour l'enzyme  $\alpha$  gal A. En l'absence de cette protéine chaperon, les protéines produites par le gène modifié sont mal pliées et vont être soumises au système de « contrôle qualité » du réticulum endoplasmique. Les protéines anormales après ubiquitinylation dans le réticulum

endoplasmique sont dégradées dans le protéasome. L'administration de galactose a permis l'amélioration des signes cliniques chez un patient atteint d'une forme « variant cardiaque » de la maladie de Fabry.

Une autre stratégie employée pour stabiliser l' $\alpha$  gal A produite après mutation implique l'utilisation de 1 deoxygalactonojirimycin (DGJ) appelé aussi Migalastat hydrochloride ou Amigal® (Laboratoire Amicus Therapeutics), un inhibiteur compétitif de l'enzyme, utilisé à de très faible concentration.

Il a été constaté chez des souris transgéniques porteuses d'une mutation altérant le repliement de l'enzyme  $\alpha$  gal A (arginine remplacée par glutamine en position 301 (R301Q) ou valine en position 97 au lieu d'une alanine (A97V)) une augmentation de l'activité résiduelle de celle-ci [L1 Chapitre 43].

Un essai clinique de phase II multinational a été réalisé en 2007 pour évaluer les doses, la tolérance, l'effet sur l'activité de l' $\alpha$  gal A, l'effet sur la concentration de Gb3 tissulaire ainsi que l'effet sur la fonction rénale de l'Amigal®. Vingt-sept patients ont été traités par voie orale pendant 12 à 24 semaines par Amigal® puis 15 de ces patients ont poursuivi l'étude en étant traités pendant au moins 2 ans. Les résultats de cette étude sont encourageants car le produit est bien toléré, aucun effet indésirable sévère n'a été noté (les plus rapportés sont mal de tête, diarrhée et douleurs des articulations), l'activité de l' $\alpha$  gal A est en augmentation chez 24 patients, le DFG est stable et la protéinurie a tendance à diminuer [I10].

Un essai clinique de phase III a débuté fin 2009. Deux études au cours de cet essai, comprenant chacune 60 patients, ont été réalisées : la première comparait l'efficacité entre l'Amigal® et un placebo sur une période de 6 mois, et la seconde comparait l'efficacité entre l'Amigal® et le traitement enzymatique substitutif par agalsidase  $\alpha$  et  $\beta$  sur une période de 18 mois.

La première étude a échoué en terme d'efficacité car trop peu de patients recevant le traitement par Amigal® ont vu leur taux de Gb3 rénal diminuer significativement par rapport au groupe *placebo*. La FDA (Food and Drug Administration) a toutefois donné son accord pour que la première étude soit poursuivie pendant 6 mois et ainsi permettre de juger de l'efficacité de l'Amigal® sur un plus long terme, même si d'un point de vue réglementaire, l'étude sera toujours considérée comme un échec.

Les résultats de la deuxième étude sont dans ce contexte très attendus mais ne seront connus qu'au cours de l'année 2014 [I11] [I12] [NHSC 2010].

Les protéines chaperons ont un avantage sur l'enzymothérapie substitutive car ce sont de très petites molécules distribuées à tous les types cellulaires principalement par diffusion et pouvant traverser la barrière hémato encéphalique (BHE). Ainsi, le SNC sera accessible au traitement [L1 Chapitre 43].

L'association de l'Amigal® et de l'enzymothérapie substitutive, étudiée dans des modèles de souris montre que cette co-administration permet d'obtenir un taux d'enzyme de substitution plus important qui atteint les lysosomes et prolonge la durée d'action de l'agalsidase dans la circulation sanguine diminuant ainsi le taux de Gb3 dans les tissus.

## 5. Thérapie génique

### 1. Principe

La thérapie génique utilise des acides nucléiques (ADN ou ARN) pour soigner ou prévenir une maladie donnée. Il s'agit de délivrer aux cellules de l'organisme un gène fonctionnel qui remplace le gène défectueux responsable de la maladie. La correction du défaut génétique se fait dans les cellules somatiques : on parle de thérapie génique somatique. Celle-ci peut guérir ou atténuer la pathologie d'un patient mais n'affecte pas les gènes de sa descendance. Une thérapie génique qui modifierait les cellules reproductrices, appelée thérapie génique germinale, a déjà été réalisée sur des ovules fécondés de souris, mais n'est pas réalisée chez l'homme pour des questions éthiques portant sur la modification des gènes des générations futures [L10].

Dans la thérapie génique, différentes méthodes permettent d'insérer les acides nucléiques dans les cellules d'un patient :

- Une méthode utilisant des vecteurs viraux : les virus utilisés sont sécurisés en étant génétiquement modifiés pour éliminer les séquences du génome viral codant pour des protéines éventuellement pathogènes. Le transfert d'ADN dans les cellules humaines par l'intermédiaire de virus est appelé transduction.

Le choix du virus se fait selon plusieurs critères : la taille du fragment pouvant être inséré dans le vecteur, la capacité à s'intégrer ou non au génome, et la capacité d'infecter des cellules qui sont ou non en division.

- Des méthodes non virales : elles permettent de transférer des acides nucléiques dans les cellules par l'intermédiaire de liposomes ou par électroporation. On parle de transfection. Il existe aussi une méthode de transfert des acides nucléiques par l'intermédiaire d'un récepteur [L9] [L11].

### 2. Les vecteurs

#### 1. Les vecteurs non viraux

Ils permettent de transférer les acides nucléiques dans les cellules sous forme d'épisome extrachromosomique. Contrairement à certains vecteurs viraux, ils ne s'intègrent pas au

génomique de la cellule. Le gène introduit a donc une durée d'expression limitée, ce qui nécessite le plus souvent de répéter les traitements.

Plusieurs méthodes permettent de véhiculer le gène :

- Les liposomes sont des vésicules lipidiques artificielles chargées positivement qui permettent de complexer le gène à transférer (ADN chargé négativement), et ainsi former un complexe lipidique pouvant interagir avec la membrane de la cellule. Le complexe entre dans la cellule par endocytose. Dans le cytoplasme, la membrane de l'endosome est déstabilisée par des lipides neutres et l'ADN peut alors s'en échapper. Dans les cellules en division lors de la mitose, l'enveloppe nucléaire se fragmente et l'ADN contenu dans le cytoplasme peut alors entrer dans le noyau pour être transcrit.
- L'électroporation est une impulsion électrique de courte durée et de haute intensité qui perturbe temporairement les propriétés physico-chimiques des membranes cellulaires de manière qu'elles se laissent traverser par les molécules d'ADN présentes dans le milieu.
- Une endocytose par l'intermédiaire d'un récepteur : L'ADN est relié à un ligand reconnu par des récepteurs en surface des cellules cibles. L'ADN est internalisé dans les cellules [L9] [L11].

## **2. Les vecteurs viraux**

Plusieurs types de virus sont utilisés en thérapie génique pour véhiculer du matériel génétique au sein des cellules cibles de patients atteints de maladie génétique. Ce sont le plus souvent des rétrovirus, lentivirus, adénovirus, adénovirus associés (AAV) ou des herpesvirus. Plusieurs paramètres permettent de choisir l'utilisation d'un type de virus plutôt qu'un autre selon l'usage que l'on veut en faire :

- Certains virus ont un large tropisme, c'est-à-dire qu'ils infectent un large éventail de cellules, alors que d'autres ne vont infecter qu'une sorte de cellules présentant un type de récepteur à sa surface.
- Les virus n'intègrent pas tous la même taille de gène thérapeutique car la capacité d'insertion dépend de la taille du génome viral.

- Certains virus peuvent infecter des cellules en division, d'autres des cellules quiescentes, et parfois les deux.
- L'intégration du gène thérapeutique au génome de la cellule cible permet une expression à long terme du gène. En revanche, l'insertion peut parfois être aléatoire et la localisation du gène peut varier d'une cellule à l'autre. Cette insertion au hasard peut activer dans certains cas des oncogènes provoquant alors des cancers [L11].

Le tableau suivant résume les paramètres des virus les plus utilisés [L11]:

Classe de virus	Génome viral	Capacité de clonage	Interaction avec le génome hôte	Cellules cibles	Expression du transgène
<i>Rétrovirus</i> (oncorétrovirus)	ARN sb	7-8 kb	Intégration	Cellules se divisant	Longue durée
<i>Lentivirus</i>	ARN sb ~ 9 kb	Jusqu'à 8 kb	Intégration	Cellule se divisant ou non	Longue durée et haut degré d'expression
<i>Adénovirus</i>	ADN db Jusqu'à 38 kb	7,5 kb	Ne s'intègre pas	Cellules se divisant ou non	Transitoire, mais haut degré d'expression
<i>Adénovirus associés</i>	ADN sb 5 kb	< 4,5 kb	Ne s'intègre pas	Cellules se divisant ou non	Haut degré d'expression à long terme (année)
<i>Virus herpes simplex</i>	ADN db 120-200 kb	> 30 kb	Ne s'intègre pas	SNC	Potentiel d'expression de longue durée

sb : simple brin db : double brin

### 3. Application à la maladie de Fabry

Dans le cas de la maladie de Fabry, il s'agit de transférer le gène normal codant pour l' $\alpha$  gal A, à l'aide d'un vecteur le plus souvent viral, directement dans les cellules du patient. Son organisme pourra ainsi générer naturellement l'enzyme corrigée.

Les premières études de thérapie génique concernant la maladie de Fabry ont été réalisées au Canada en 2004 sur des modèles de souris nouveaux-nés. Après avoir injecté dans la veine temporale de l'animal un vecteur lentiviral construit avec le gène codant pour la luciférase, il est observé après 24 semaines une luminescence due à l'expression de la luciférase dans plusieurs organes dont le cerveau. Dans un deuxième temps, un vecteur thérapeutique exprimant l' $\alpha$  gal A humaine est construit puis injecté aux souris. Après 28 semaines, plusieurs organes de l'animal présentent une activité enzymatique significativement élevée. Celle-ci est dépendante de la dose de vecteur thérapeutique injectée. Aucune réaction immunitaire contre l' $\alpha$  gal A n'a été observée. Les taux importants d'enzyme ont permis la diminution significative de Gb3 dans le foie, la rate et le cœur (Yoshimitsu *et al* 2004).

Cette étude montrant l'efficacité et la tolérance de la thérapie génique va permettre à d'autres chercheurs d'améliorer le ciblage de certains organes en modifiant notamment les promoteurs utilisés avec le vecteur thérapeutique.

En 2010, il a été comparé l'utilisation de vecteurs lentiviraux associés à un des promoteurs myocardiques spécifiques suivants :  $\alpha$ -myosin heavy chaine ( $\alpha$ -MHC), myosin light chain (MLC2V), ou cardiac troponin T (cTnT) ; ceci dans le but de traiter des souris « variant cardiaque » de la maladie de Fabry. Tout d'abord, des souris ont reçu un vecteur lentiviral exprimant la luciférase. Un mois après l'injection, il a été observé l'expression de la luciférase au niveau du cœur de l'animal pour chaque promoteur cardiaque mais plus spécifiquement pour l' $\alpha$ -MHC (en comparaison avec l'expression de la luciférase conduite par le promoteur EF1- $\alpha$ ). Puis, pour évaluer la possibilité d'une thérapie génique à long terme ciblant le cœur, il a été créé et injecté à des souris un vecteur thérapeutique possédant le gène codant pour l' $\alpha$  gal A ainsi qu'un des promoteurs cardiaques (LV- $\alpha$ galA). Après dix semaines de traitement, l'activité de l' $\alpha$  gal A a augmenté chez les souris traitées par le vecteur LV- $\alpha$ galA avec chacun des promoteurs utilisés. Il n'y a cependant pas d'autres augmentations après dix semaines mais l'activité de l'enzyme produite reste stable. Après 28 semaines de traitement, une diminution significative de l'accumulation de Gb3 dans le cœur a été observée quel que soit le promoteur utilisé. Aucune réponse immunitaire dirigée contre l'enzyme produite n'a été observée au cours du traitement. Cette étude a mis en évidence la spécificité du promoteur  $\alpha$ -MHC pour la transduction de

vecteur chez les souris « variant cardiaque » de la maladie de Fabry (Chyang-Jang *et al*, 2010).

Une autre étude aboutissant à la réduction de l'accumulation de Gb3 dans le cœur et le rein a été menée par des chercheurs canadiens. L'étude concerne l'ajout du gène codant pour la protéine de fusion Tat au gène d'intérêt codant pour l'enzyme  $\alpha$  gal A dans le lentivecteur. Cette protéine Tat une fois produite dans l'organisme va permettre à l'enzyme de pénétrer plus facilement dans le lysosome indépendamment des récepteurs au mannose-6-phosphate. Aucune différence d'activité enzymatique dans les tissus après 26 semaines de traitement n'a été montrée entre l'utilisation de LV- $\alpha$ galA et LV- $\alpha$ galA-Tat, seul le taux de Gb3 est modifié (Higuchi *et al*, 2010).

Des recherches ont été menées pour déterminer l'efficacité de nanoparticules lipidiques solides (SLN), particules non virales, dans le traitement de la maladie de Fabry. Ces SLN sont constituées d'un cœur lipidique, généralement à base de triglycérides hautement purifiés ou des mélanges de glycérides ou des cires. Elles ont une stabilité et une capacité à encapsuler les molécules lipophiles supérieures à celle des liposomes.

Ces SLN vont encapsuler le plasmide contenant le gène d'intérêt codant pour l'enzyme  $\alpha$  gal A, puis être transfectées dans des cellules Hep G2 (cellules de carcinome hépatique humain). L'activité de l'enzyme  $\alpha$  gal A est mesurée dans ces cellules après transfection *in vitro* : Celle-ci augmente significativement dans les cellules traitées après 24 et 72 heures par rapport aux cellules non traitées. Si l'on ajoute des protamines seules ou un mélange protamines et dextrane aux SLN, l'activité  $\alpha$  gal A est significativement plus élevée. La protamine est utilisée pour sa haute capacité de condensation de l'ADN, lui conférant ainsi une plus grande protection contre les DNases. L'ajout de dextrane induit un temps de circulation plus lent des SLN du fait d'une assimilation plus lente par le système réticulo-endothélial, ainsi l'activité  $\alpha$  gal A est plus élevée dans les préparations contenant dextrane et protamine. Cette étude montre qu'il est possible d'utiliser des particules non virales pour corriger les faibles taux enzymatiques d' $\alpha$  gal A dans la maladie de Fabry, cependant aucune étude de durée d'action dans l'organisme n'a été menée. On ne sait donc pas quelles sont les fréquences d'injection des nanoparticules nécessaires pour maintenir une activité enzymatique correcte (Pérez Ruiz de Garibay *et al*, 2012).

## Conclusion

La maladie de Fabry est une maladie de surcharge lysosomale induisant un déficit en  $\alpha$  gal A et provoquant ainsi l'accumulation de Gb3 dans les différents tissus de l'organisme atteint. Cette maladie, due à une mutation sur le chromosome X, entraîne de nombreuses complications, notamment au niveau des organes vitaux comme le cœur ou le rein. La thérapie enzymatique substitutive, bien que bénéfique sur les symptômes du patient, est une thérapie coûteuse qui ralentit la progression de la maladie mais ne corrige pas définitivement la mutation du gène GLA. De plus, son efficacité repose sur la mise en place précoce de la thérapie après l'installation de la maladie.

Les nouvelles recherches ont permis le développement de nouvelles thérapies comme les protéines chaperons ou encore la thérapie génique. Ces thérapies ont la capacité de corriger l'anomalie de repliement de l'enzyme dans le cas des protéines chaperons, et d'introduire le gène normal GLA dans le cas de la thérapie génique.

La thérapie génique est réellement porteuse d'espoir puisqu'en 2013 a été initié le premier essai clinique sur des êtres humains. La première phase de l'essai consiste à prélever dans le sang du patient, des cellules souches de type CD34+, ceci dans le but d'y introduire un lentivecteur modifié, porteur du gène GLA sain. Les résultats de cette étude ne sont pour le moment pas connus mais les chercheurs pensent que si les résultats pré-cliniques sont satisfaisants et répondent aux exigences de réglementation de santé, un premier patient atteint de la maladie de Fabry pourrait être traité par cette thérapie dans un délai de deux ans après validation.

# Annexes

# Annexe 1: Brief Pain Inventory

 1903	Date: <input type="text"/> / <input type="text"/> / <input type="text"/> (month)      (day)      (year)	Study Name: _____ _____ Protocol #: _____ PI: _____ Revision: 07/01/05
	Subject's Initials : _____ Study Subject #: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	

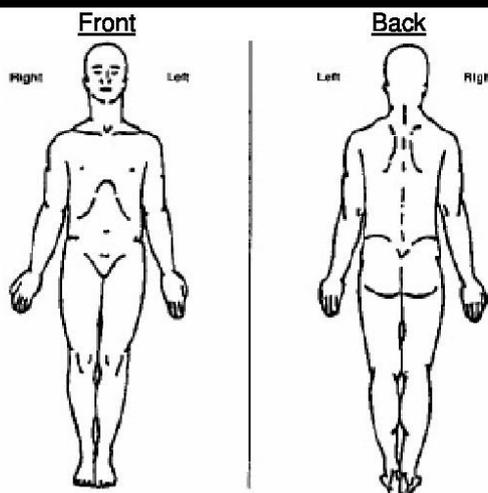
PLEASE USE BLACK INK PEN

## Brief Pain Inventory (Short Form)

1. Throughout our lives, most of us have had pain from time to time (such as minor headaches, sprains, and toothaches). Have you had pain other than these everyday kinds of pain today?

Yes     No

2. On the diagram, shade in the areas where you feel pain. Put an X on the area that hurts the most.



3. Please rate your pain by marking the box beside the number that best describes your pain at its **worst** in the last 24 hours.

0     1     2     3     4     5     6     7     8     9     10  
 No Pain Pain As Bad As You Can Imagine

4. Please rate your pain by marking the box beside the number that best describes your pain at its **least** in the last 24 hours.

0     1     2     3     4     5     6     7     8     9     10  
 No Pain Pain As Bad As You Can Imagine

5. Please rate your pain by marking the box beside the number that best describes your pain on the **average**.

0     1     2     3     4     5     6     7     8     9     10  
 No Pain Pain As Bad As You Can Imagine

6. Please rate your pain by marking the box beside the number that tells how much pain you have **right now**.

0     1     2     3     4     5     6     7     8     9     10  
 No Pain Pain As Bad As You Can Imagine



## Annexe 2: Short form 36

### QUESTIONNAIRE GENERALISTE SF36 (QUALITE DE VIE)

1.- En général, diriez-vous que votre santé est : (cocher ce que vous ressentez)

Excellente \_\_\_ Très bonne \_\_\_ Bonne \_\_\_ Satisfaisante \_\_\_ Mauvaise \_\_\_

2.- Par comparaison avec il y a un an, que diriez-vous sur votre santé aujourd'hui ?

Bien meilleure qu'il y a un an \_\_\_ Un peu meilleure qu'il y a un an \_\_\_  
A peu près comme il y a un an \_\_\_ Un peu moins bonne qu'il y a un an \_\_\_  
Pire qu'il y a un an \_\_\_

3.- vous pourriez vous livrer aux activités suivantes le même jour. Est-ce que votre état de santé vous impose des limites dans ces activités ? Si oui, dans quelle mesure ? (entourez la flèche).

a. Activités intenses : courir, soulever des objets lourds, faire du sport.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

b. Activités modérées : déplacer une table, passer l'aspirateur.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

c. Soulever et transporter les achats d'alimentation.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

d. Monter plusieurs étages à la suite.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

e. Monter un seul étage.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

f. Vous agenouiller, vous accroupir ou vous pencher très bas.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

g. Marcher plus d'un kilomètre et demi.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

h. Marcher plus de 500 mètres

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

i. Marcher seulement 100 mètres.

\_\_\_\_\_  
↓  
Oui, très limité                      oui, plutôt limité                      pas limité du tout

QUESTIONNAIRE GENERALISTE SF36 (QUALITE DE VIE)

Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

*c. étiez-vous si triste que rien ne pouvait vous égayer ?*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

*d. vous sentiez-vous au calme, en paix ?*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

*e. aviez-vous beaucoup d'énergie ?*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

*f. étiez-vous triste et maussade ?*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

*g. aviez-vous l'impression d'être épuisé(e) ?*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

*h. étiez-vous quelqu'un d'heureux ?*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

*i. vous êtes-vous senti fatigué(e) ?*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

**10.- Au cours des 4 dernières semaines, votre état physique ou mental a-t-il gêné vos activités sociales comme des visites aux amis, à la famille, etc ?**

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout le temps      très souvent      parfois      peu souvent      jamais

**11.- Ces affirmations sont-elles vraies ou fausses dans votre cas ?**

*a. il me semble que je tombe malade plus facilement que d'autres.*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout à fait vrai      assez vrai      ne sais pas      plutôt faux      faux

*b. ma santé est aussi bonne que celle des gens que je connais.*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout à fait vrai      assez vrai      ne sais pas      plutôt faux      faux

*c. je m'attends à ce que mon état de santé s'aggrave.*

\_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓ \_\_\_\_\_ ↓  
 Tout à fait vrai      assez vrai      ne sais pas      plutôt faux      faux

QUESTIONNAIRE GENERALISTE SF36 (QUALITE DE VIE)

*d. mon état de santé est excellent.*

↓ ↓ ↓ ↓ ↓  
\_\_\_\_\_  
Tout à fait vrai    assez vrai    ne sais pas    plutôt faux    faux

Wade JE, Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). Medical Care 1992;30:473-483.

# Bibliographie

## Articles scientifiques

Ardailoui R., Le Gall J-Y. (2007) : Le dépistage néonatal généralisé par des tests d'analyse biologique. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 35 (367-374).

Auray-Blais C., Millington D. S., Young S. P. et al (2009) : Proposed high-risk screening protocol for Fabry disease in patients with renal and vascular disease (303-308).

Barbey F., Lidove O., Droz D. et al (2000) : Maladie de Fabry : aspects cliniques et perspectives thérapeutiques. *Revue générale* (763-771).

Caudron E., Germain D.P., Prognon P., (2010) : Dépistage de la maladie de Fabry par mesure de l'activité enzymatique de gouttes de sang séché sur papier filtre. *La revue de médecine interne* 31 (S263-S269).

Chamoles N.A., Blanco M., Gaggioli D. (2001) : Fabry disease : enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clinica Chimica Acta Elsevier* (195-196).

Clavelou P., Besson G., Elziere C. et al (2006) : Manifestations neurologiques de la maladie de Fabry. *Revue générale* (569-580).

Desnick R.J. (2001) : Maladie de Fabry : Manifestations cliniques et progrès récents dans la correction du déficit enzymatique. *Actualités néphrologiques Flammarion médecine-sciences*.

Ferverza F., Torra R., Warnock D. (2008) : Safety and efficacy of enzyme replacement therapy in the nephropathy of Fabry disease. *Biologics : Targets and therapy* (823-843).

Froissart R., Piraud M., Maire .I (2010) : Apport du génotypage dans la maladie de Fabry. *La revue de médecine interne* 31 (S275-S278).

Germain D., Poenaru L. (1997) : La FAMA (fluorescence-assisted mismatch analysis). *Médecine/Sciences n°13* (846-849).

Gubler M.C. (2010) : Lésions rénales dans la maladie de Fabry. *La revue de médecine interne* 31 (S220-S225).

Hagège A. (2010) : Manifestations cardiaque de la maladie de Fabry et données d'efficacité enzymatique. *La revue de médecine interne* 31 (S238-S242).

Haute Autorité de Santé (2010) : Maladie de Fabry Protocole national de diagnostic et de soins.

Henda C., Nerjes G., Adnen M., et al (2013) : Maladie de Fabry : aspects clinique, biologique et thérapeutique. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*.

Higuchi K., Yoshimitsu M., Fan X., et al (2010) :  $\alpha$ -Galactosidase A-Tat fusion enhances storage reduction in hearts and kidney of Fabry mice. *Mol Med* 16 (216-221).

Hughes D., Romero M-A., Hollack C. et al (2011) : Response of women with Fabry disease to enzyme replacement therapy : Comparison with men, using data from FOS – The Fabry Outcome Survey. *Molecular Genetics and Metabolism* 103 (207-214).

Launay D, De Groote P, Lamblin N, Hachulla E (2005) : Atteinte cardiaque de la maladie de Fabry. *AMC pratique* n°144.

Lao L.M, Kumakiri M., Mima H. et al (1998) : The ultrastructural characteristics of eccrine sweat glands in a Fabry disease patient with hypohidrosis. *Journal of dermatological science* 18 (109-117).

Lee C., Fan X., Guo X., et al (2010) : Promoter-specific lentivectors for long-term, cardiac-directed therapy of Fabry disease. *Journal of cardiology* 57 (115-122).

Lidove O., Bekri S., Goizet C. et al (2007) : Maladie de Fabry : propositions d'un groupe d'experts français concernant le diagnostic, le traitement et le suivi des patients. *La presse médicale édition Elsevier Masson* (1084-1097).

Lidove O., Papo T. (2009) : Efficacité clinique de l'enzymothérapie dans la maladie de Fabry. *Analyse critique. La revue de médecine interne* 30 (920-929).

Mahé E., Hadj-Rabia S., Chauveau D. et al (2005) : Place du dermatologue et progrès thérapeutiques. *Formation médicale continue* (171-176).

Malinvaud D., Germain D.P., Benistan K., Bonfils P. (2010) : Manifestations ORL de la maladie de Faby. *La revue de médecine interne* 31 (S251-S256).

Mendre C., Mouillac B. (2010) : Chaperons pharmacologiques : un espoir thérapeutiques pour les pathologies conformationnelles. *Médecine Sciences* (627-635).

Morier A., Minter J., Tyszko R., McCann R., Clarke V., Browning M. (2010) : Ocular manifestations of Fabry disease within in a single kindred. *Optometry* 81 (437-449).

National Horizon Scanning Centre (2010) : Migalastat hydrochloride for Fabry disease.

Noël L.H., Laurent B., Grünfeld J.P. (2012) : La biopsie rénale dans la maladie de Fabry : Etude multicentrique française. *Néphrologie et thérapeutique* 8 (433-438).

Pérez Ruiz de Garibay A., Delgado D., Del Pozo-Rodriguez A., et al (2012) : Multicomponent nanoparticles as nonviral vectors for the treatment of Fabry disease by gene therapy. *Drug Design, Development and Therapy* 2012:6 (303-310).

Piraud M., Maire I., Froissart R. (2010) : Intérêt du dosage du globotriaosylcéramide urinaire pour le diagnostic et le suivi du traitement de la maladie de Fabry. *La revue de médecine interne* 31 (S270-274).

Valayannopoulos V., Brassier A., Chabli A., et al (2011) : Le traitement par enzymothérapie des maladies lysosomales. *Pédiatrie au quotidien* (1119-1123).

Wilcox W.R., Linthorst G.E., Germain D.P, Feldt-Rasmussen U., et al (2012) : Anti  $\alpha$  galactosidase A antibody response to agalsidase  $\beta$  treatment : Data from the Fabry Registry. *Molecular genetics and metabolism* (443-449).

Yoshimitsu M., Sato T., Tao K. et al (2004) : Bioluminescent imaging of a marking transgene and correction of Fabry mice by neonatal injection of recombinant lentiviral vectors. *PNAS : Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (16909-16914).

## Livres

**[L1]** Fabry disease Perspectives from 5 years of Fabry Outcome Survey.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK11586/>

**[L2]** Aide mémoire de biologie cellulaire 3<sup>ème</sup> édition (Monique Tourte) page 170.

**[L3]** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique (L. Kierszenbaum) Edition De Boeck. Page 65.

**[L4]** Les lasers en dermatologies. Edition Doin (2<sup>ème</sup> édition) Page 99.

**[L5]** Biologie moléculaire de la cellule (Harvey Lodish,Arnold Berk,Paul Matsudaira,Chris A. Kaiser,James Darnell) Edition de Boeck. Page 69.

**[L6]** Biologie cellulaire et moléculaire : Tout le cours en fiche. Edition Dunod. Page 148.

**[L7]** Biologie du développement. Edition Gilbert (2<sup>ème</sup> édition). Page 124.

**[L8]** Atlas de poche génétique. Eberhard Passarge. Edition Flammarion (3<sup>ème</sup> édition).

**[L9]** Génétique médicale : De la biologie à la pratique clinique. Read & Donnai. Edition De Boeck (2007). Page 379-380-388.

**[L10]** L'essentiel de la génétique. Pierce. Edition De Boeck (1<sup>ère</sup> édition). Page 368.

**[L11]** Génétique moléculaire humaine. Tom Strachan & Andrew Read. Edition Lavoisier (4<sup>ème</sup> édition). Page 699-716.

## Sites internet

- [I1] « Généo ». <http://www.centre-geneo.com/articles/historique-maladie-fabry.php>
- [I2] « Maladie de Fabry : Tableau clinique, diagnostic, traitement ».  
<http://www.soc-nephrologie.org/PDF/epro/orphaneph/4/presentation.pdf>
- [I3] « Comment la maladie de Fabry se transmet elle ? ».  
[http://www.lysomed.be/patient/fabry/lyso\\_pt\\_fa\\_inherited\\_fr.asp](http://www.lysomed.be/patient/fabry/lyso_pt_fa_inherited_fr.asp)
- [I4] « Genatlas ». <http://genatlas.medecine.univ-paris5.fr/fiche.php?n=5353>
- [I5] « CCDS Database »  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/CCDS/CcidsBrowse.cgi?REQUEST=CCDS&DATA=CCDS14484.1>
- [I6] « The human gene mutation database ».  
<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=GLA>
- [I7] « Anderson Fabry disease ». <http://flipper.diff.org/app/items/info/2968#fn8>
- [I8] « Larousse encyclopédie ».  
<http://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/acroparesth%C3%A9sie/10939>
- [I9] « Highlights of prescribing information ».  
[http://www.fabrazyme.com/hcp/pi/fz\\_us\\_hc\\_pi.pdf](http://www.fabrazyme.com/hcp/pi/fz_us_hc_pi.pdf)
- [I10] « Amicus therapeutics presents positive data update from phase 2 extension study of Amigal for Fabry disease ».  
[http://www.drugs.com/clinical\\_trials/amicus-therapeutics-presents-positive-data-update-phase-2-extension-study-amigal-fabry-8867.html](http://www.drugs.com/clinical_trials/amicus-therapeutics-presents-positive-data-update-phase-2-extension-study-amigal-fabry-8867.html)
- [I11] « Amicus shares tank on phase 3 failure for Fabry drug partnered with GSK ».  
<http://www.fiercebiotech.com/story/amicus-shares-tank-phiii-failure-fabry-drug-partnered-glaxosmithkline/2012-12-19>
- [I12] « Amicus delay U.S. approval filing for Fabry disease drug ».  
<http://www.thestreet.com/story/11951746/1/amicus-delays-us-approval-filing-for-fabry-disease-drug.html>
- [I13] « La thérapie génique ».  
<http://www.inserm.fr/thematiques/immunologie-hematologie-pneumologie/dossiers-d-information/la-therapie-genique>
- [I14] « Alpha 1,4-galactosyltransférase ». <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/53947>
- [I15] « Legifrance ».  
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027064341>
- [I16] « Legifrance ».  
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000026831486>
- [I17] « Génoscope ».  
<http://www.genoscope.cns.fr/spip/Sequencage.html?artsuite=1>
- [I18] «Capsule de Bowman ». [http://en.wikipedia.org/wiki/Bowman's\\_capsule](http://en.wikipedia.org/wiki/Bowman's_capsule)

## Résumé

La maladie de Fabry est une maladie rare, héréditaire, dont la transmission est liée au chromosome X. Elle se caractérise par un déficit en une enzyme l'α galactosidase A présente dans les lysosomes. Ce déficit provoque une accumulation au sein des lysosomes de globotriaosylcéramide (Gb3), responsable d'un nombre important de signes cliniques se développant progressivement depuis l'enfance jusqu'à l'âge adulte : acroparesthésies, atteintes digestives, angiokératomes, anomalies de sudation, atteintes ophtalmique et auditive, atteintes respiratoire, cardiaque, rénale et neurologique.

Lors d'une suspicion de la maladie de Fabry, le diagnostic doit être confirmé par des méthodes biochimiques et/ou génétiques. Les hommes hémizygotés présentent une activité enzymatique très faible ou nulle. Un dosage de Gb3 urinaire va permettre de confirmer ou d'infirmer la maladie. Ce dosage peut être complété par un dosage enzymatique sanguin de l'α galactosidase A et/ou un séquençage du gène GLA. Chez les femmes hétérozygotes, l'activité enzymatique peut être normale, le diagnostic repose alors sur une étude moléculaire du gène GLA.

Deux traitements enzymatiques substitutifs sont commercialisés en France : Replagal® et Fabrazyme®. Ils sont produits par génie génétique et présentent tous les deux la même séquence en acides aminés que l'α galactosidase A. Ces deux traitements sont coûteux et doivent être pris à vie par les patients.

Une nouvelle thérapie appelée Amigal® est actuellement en Phase 3 d'un essai clinique. Elle utilise des protéines chaperons, qui sont des protéines capables de se lier à des protéines défectueuses et de les stabiliser pour leur permettre de récupérer une fonctionnalité.

Les biotechnologies ont permis le développement de la thérapie génique. A l'aide d'un vecteur, le plus souvent viral, le gène normal codant pour l'α galactosidase A est transféré directement dans les cellules du patient. Le premier essai clinique sur des êtres humains a été initié en 2013.

**Mots clés** : Fabry, maladie génétique, thérapie enzymatique, protéines chaperons, thérapie génique

## **SERMENT DE GALIEN**

En présence de mes maîtres et de mes condisciples, **je jure** :

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

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

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

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

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

**Que je sois couvert d'opprobre et méprisé** de mes confrères si je manque à mes engagements.