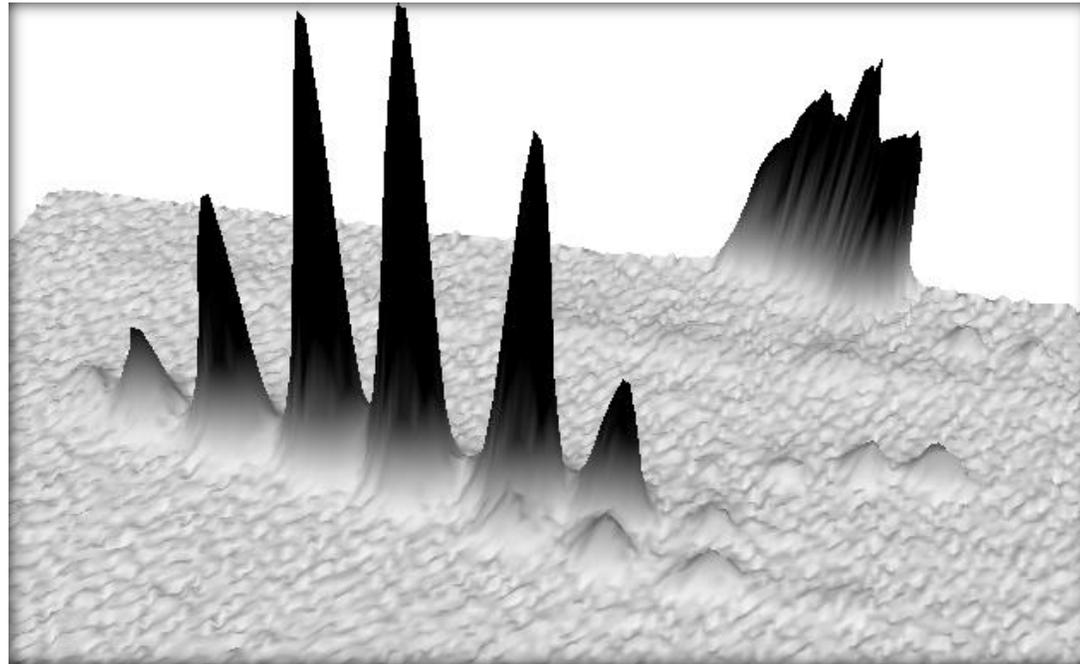


Evaluation de l'intérêt de l'analyse de l'haptoglobine sérique pour le dépistage de l'alcoolisme chronique et des désordres congénitaux de la glycosylation

Elodie CALEGARI
Encadrant : Dr Arnaud BRUNEEL



Laboratoire de Biochimie de
l'Hôpital Bichat-Claude Bernard

Introduction

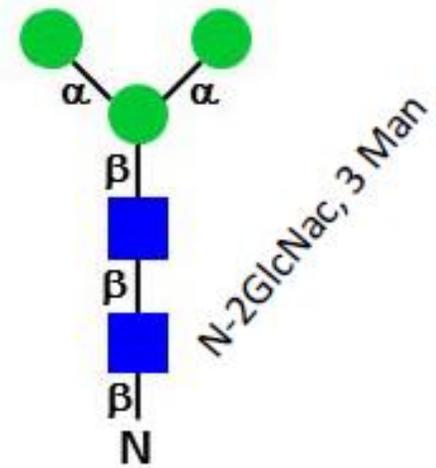
Glycosylation :

- Modification post-traductionnelle correspondant à la liaison d'une chaîne glycanne à une protéine
- 2 types principaux : N-glycosylation et O-glycosylation

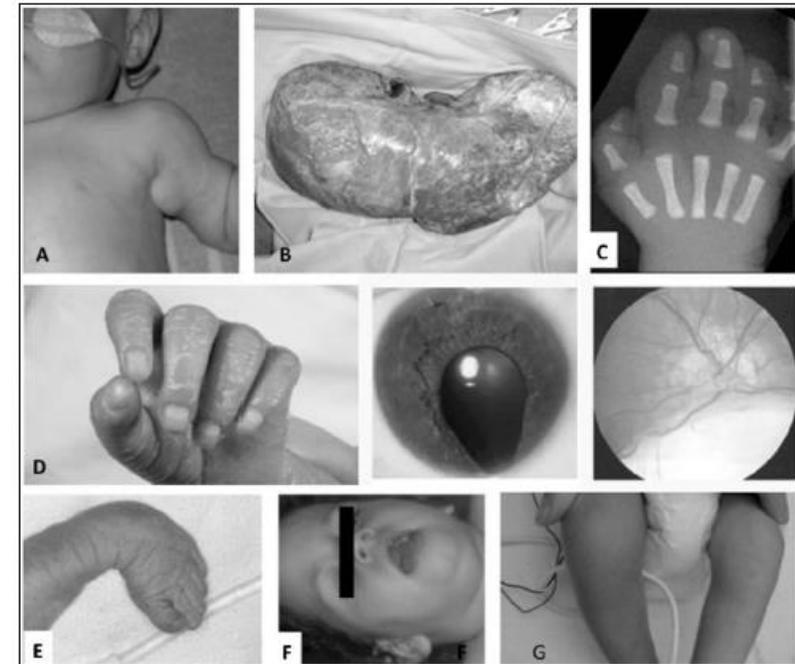
CDG : *Congenital Disorder of Glycosylation* : Maladies rares autosomiques récessives. On distingue 2 types :

- CDG-I : anomalies de synthèse de l'oligosaccharide dans le RE ou problème de transfert sur la protéine
- CDG-II : anomalies de maturation, au niveau du Golgi, de la chaîne N-glycane fixée à la protéine

Signes cliniques : atteintes multiples de gravité très variable



N-glycans

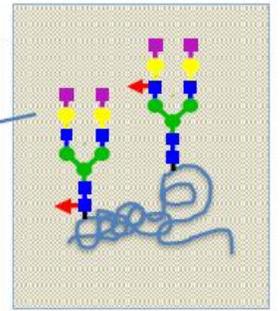
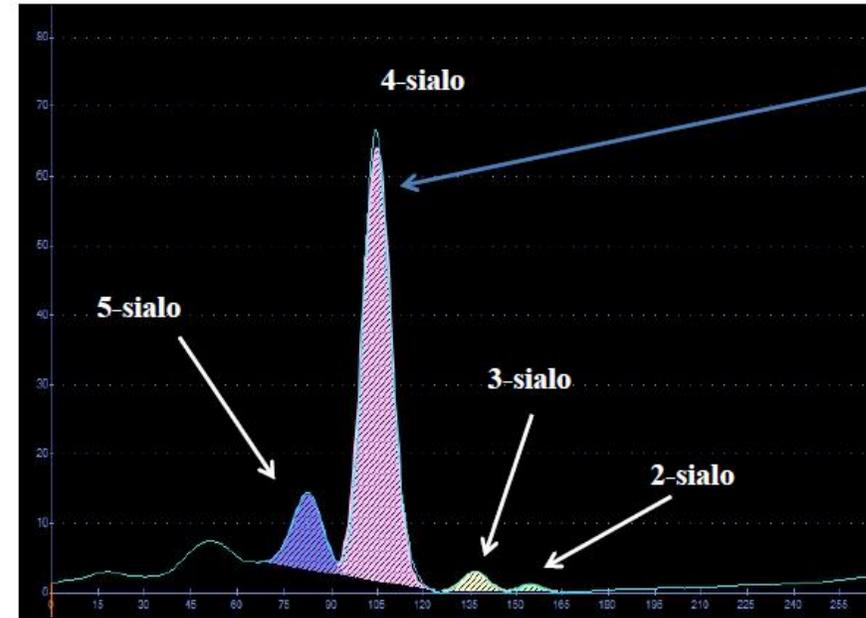


Introduction

■ Electrophorèse capillaire :

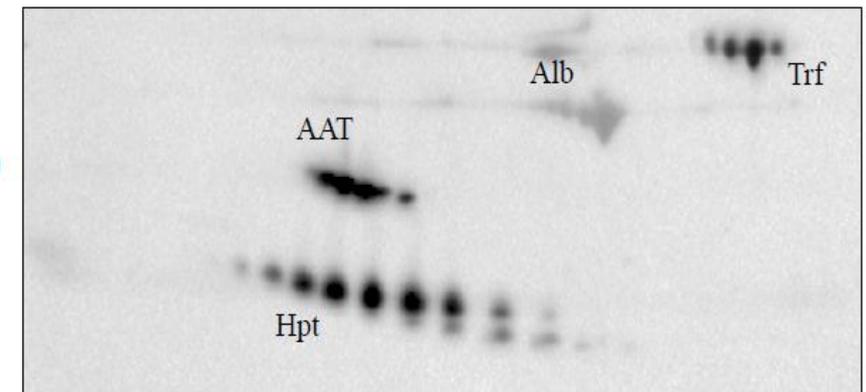
- Transferrine : glycoprotéine avec 2 chaînes N-glycanes. Forme 4-sialo majoritaire.
- CDT (*Carbohydrate Deficient Transferrin*) : correspond (%) aux formes 2-sialo et 0-sialo
- Si % CDT > 1,6 → alcoolisme chronique - anomalie de la glycosylation

■ Western blot ou 2D pour 4 glycoprotéines : transferrine, α 1 antitrypsine, haptoglobine et orosomucoïde



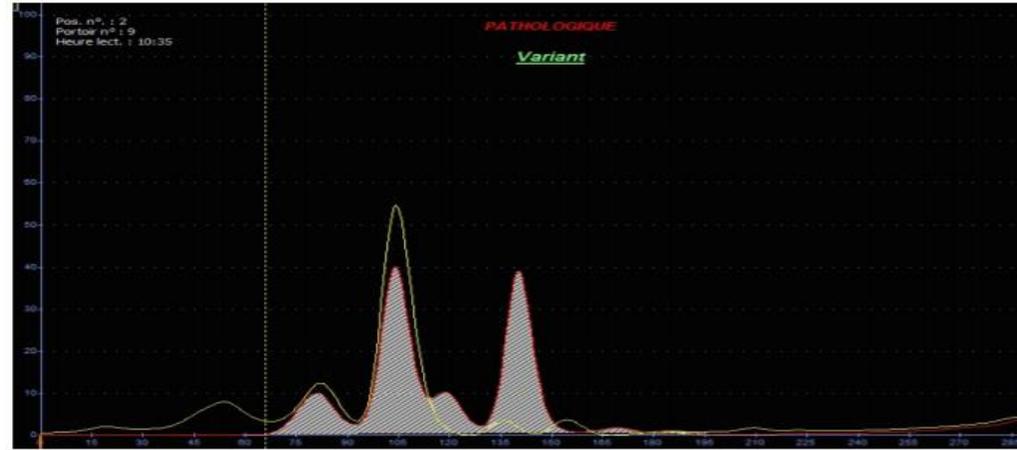
Profil normal d'électrophorèse capillaire de la transferrine

AAT = α anti-trypsine
Hpt = haptoglobine (chaîne β)
Alb = albumine (non glycosylée)
Trf = transferrine



Profil 2D normal des glycoprotéines sériques

Problématique



- La transferrine n'est pas toujours analysable : défaut de synthèse (inflammation, insuffisance hépatocellulaire, cholestase...), variant protéique (1-2 %) ...

L'analyse de la glycosylation de l'haptoglobine sérique peut-elle remplacer celle de la transferrine dans le dépistage de l'alcoolisme chronique et des CDG ?

A quoi ressemble un profil 2D normal de l'haptoglobine ?

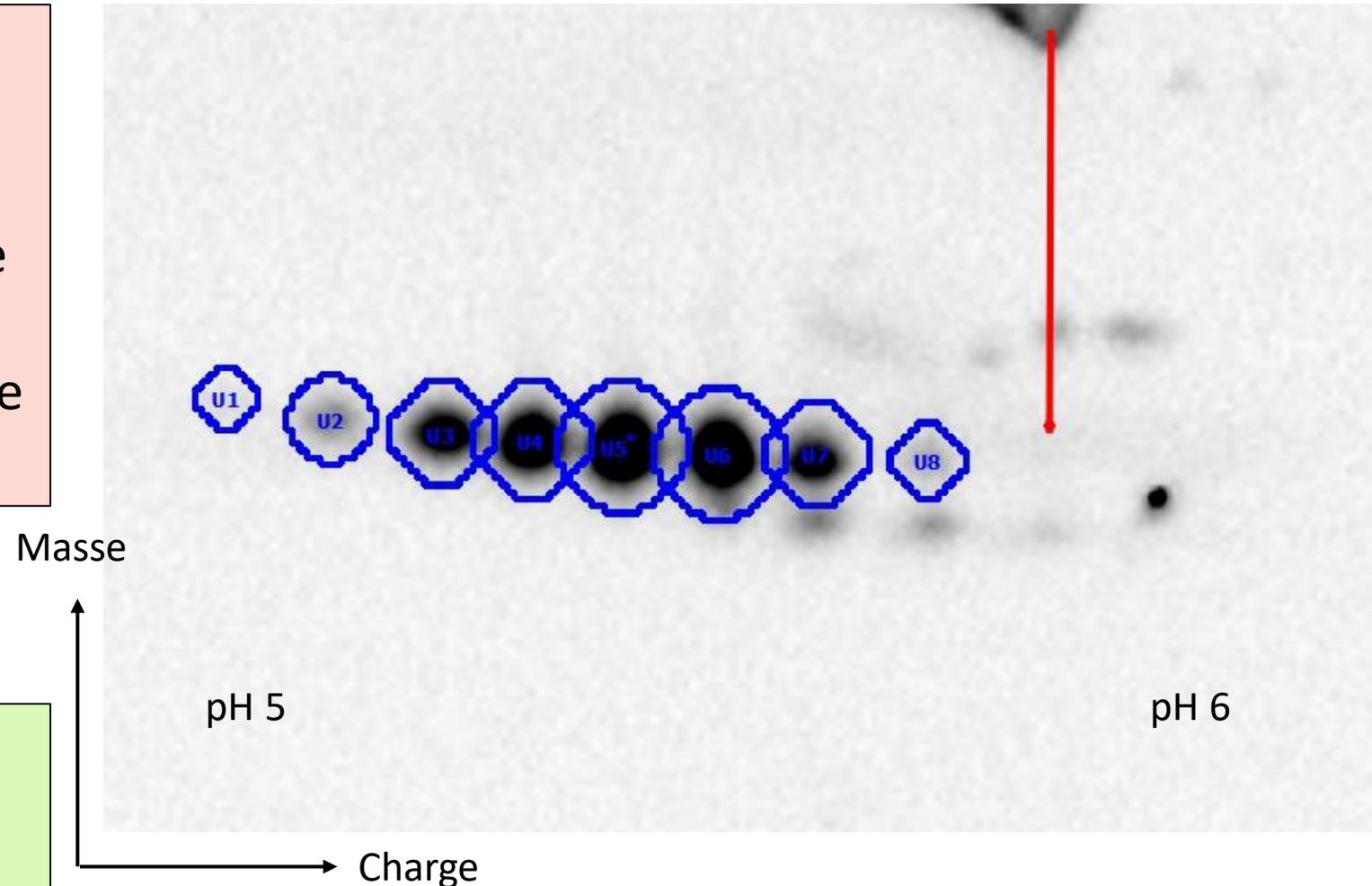
Electrophorèse 2D :

- Isoélectrofocalisation (IEF) pour séparer en fonction de la charge
- SDS-PAGE pour séparer en fonction de la masse moléculaire
- Détection par Western-blot

Conclusion :

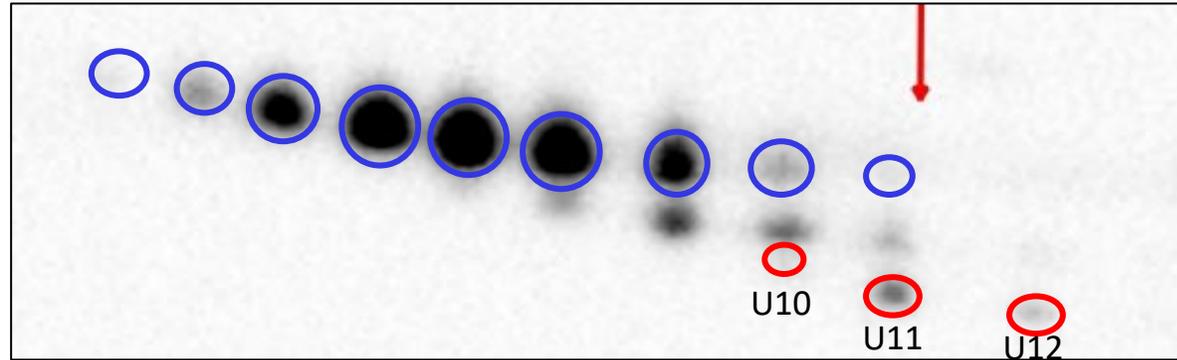
- 8 à 9 glycoformes différentes
- U4, U5 et U6 sont majoritaires

Electrophorèse 2D d'un profil normal de l'haptoglobine

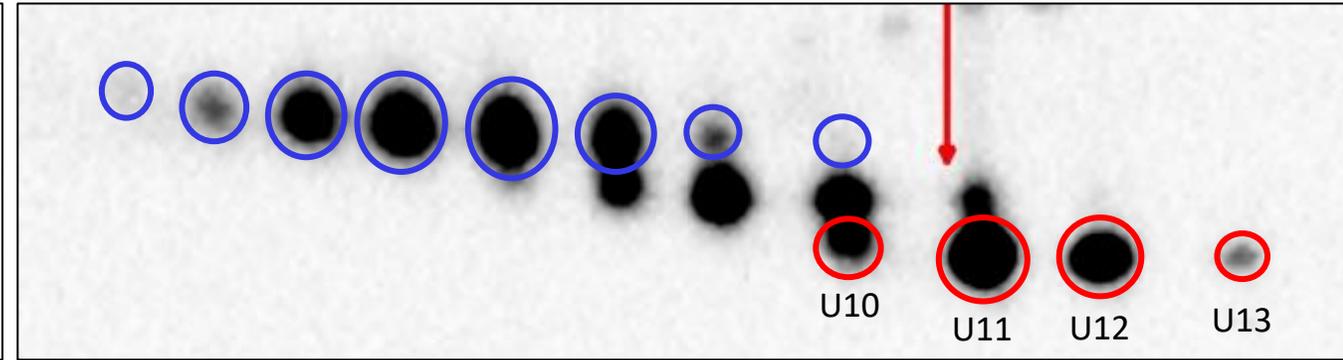


Les profils 2D de l'haptoglobine chez des patients alcooliques et CDG-I diffèrent-ils de ceux des témoins ?

Profil d'haptoglobine d'un patient alcoolique



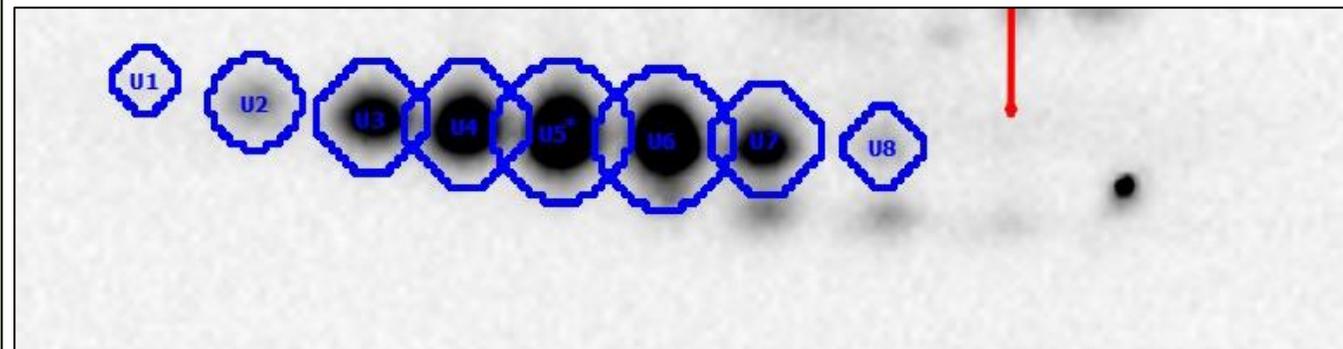
Profil d'haptoglobine d'un patient CDG-I



Conclusion :

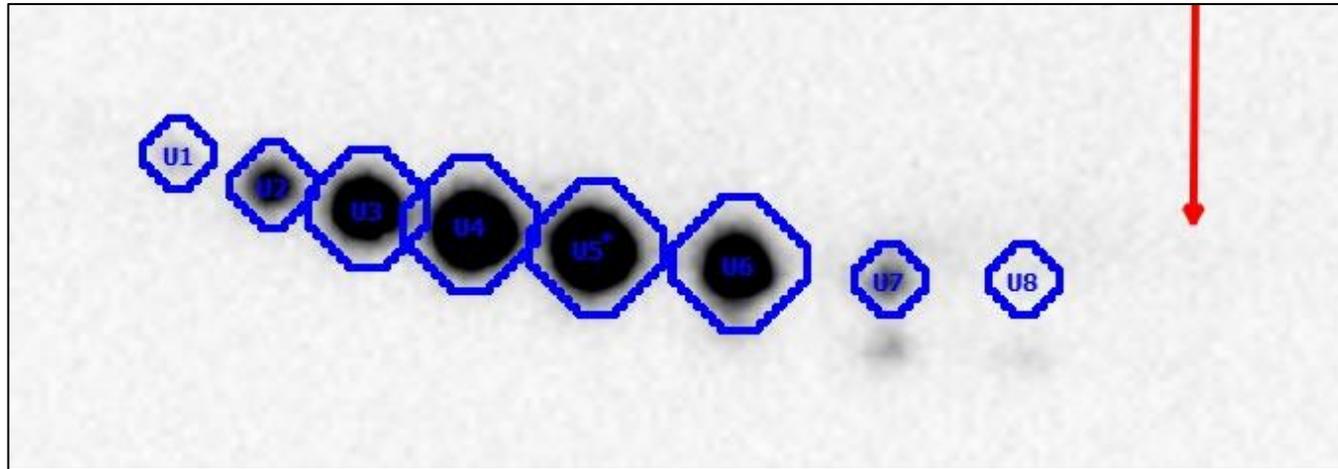
- Présence de tâches supplémentaires moins négatives et de masse moléculaire plus faible chez les patients CDG-I et les alcooliques
- Perte de chaînes complètes

Profil d'haptoglobine d'un patient contrôle



Les profils de l'haptoglobine de variants de la transferrine diffèrent-ils de ceux des témoins ?

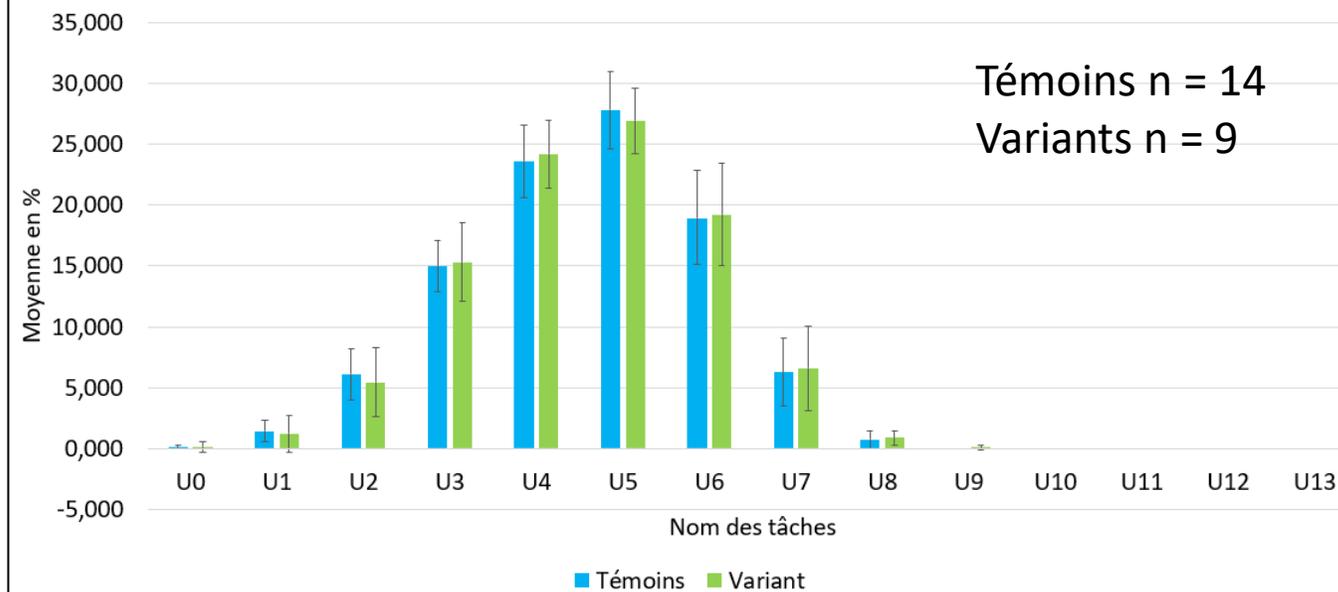
Profil d'haptoglobine d'un variant de la transferrine



Conclusion :

- Les profils d'haptoglobine des variants sont statistiquement identiques à ceux des témoins
- Regroupement variants/témoins pour la suite de l'étude

Représentation graphique des moyennes du % des tâches chez les témoins et les variants



Valeurs normales (moy +/- 2 écarts-type) :

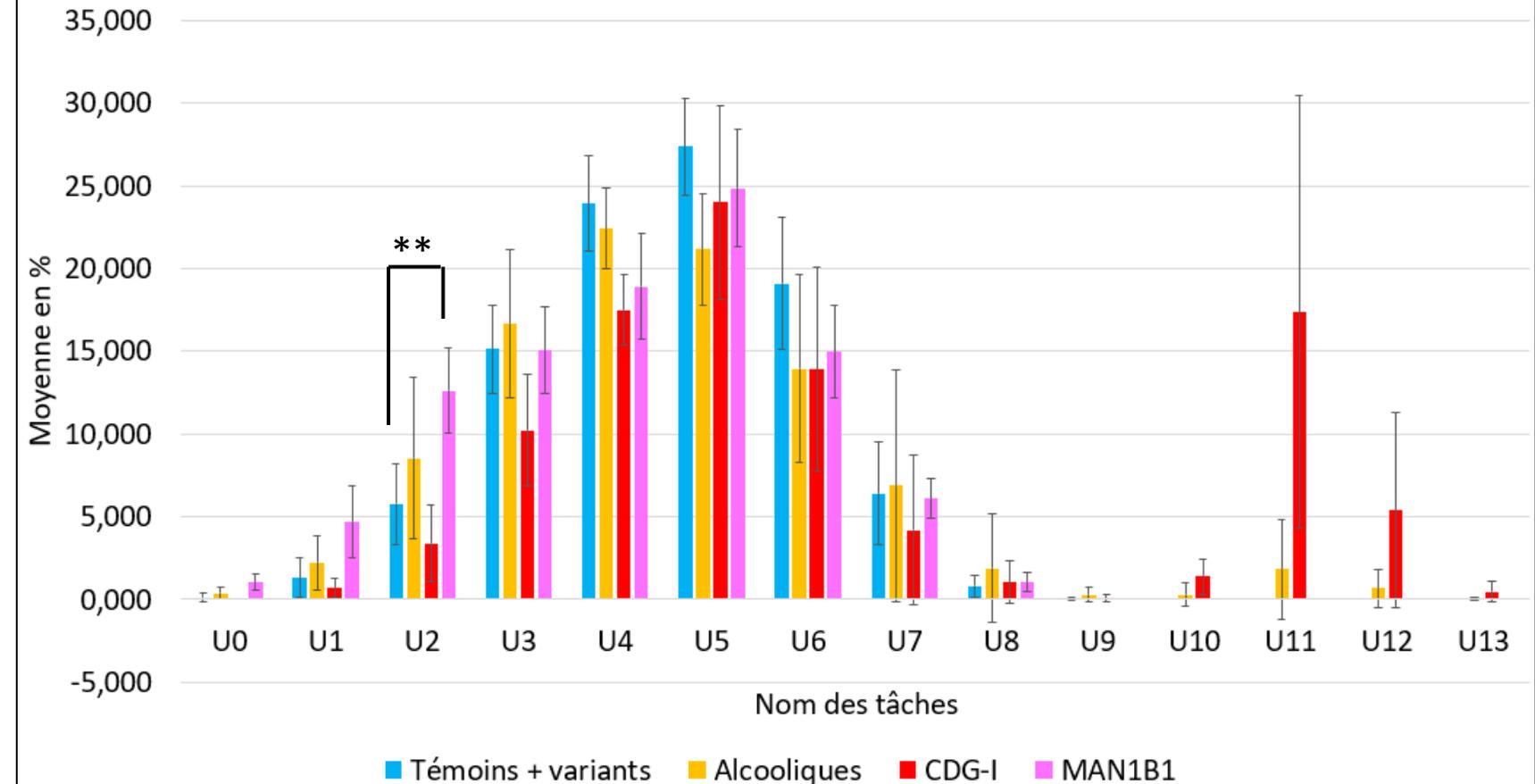
U0 : 0%-0,7 %	U7 : 0,43%-12,37%
U1 : 0 %-3,62%	U8 : 0%-2,14%
U2 : 1,12%-10,57%	U9 : 0%-0,24%
U3 : 10,07%-20,17%	U10 : 0%
U4 : 18,15%-29,57%	U11 : 0%
U5 : 21,53%-33,4%	U12 : 0%
U6 : 11,27%-26,85%	U13 : 0%

La quantification des formes de l'haptoglobine montre-t-elle des différences entre les différents groupes de patients ?

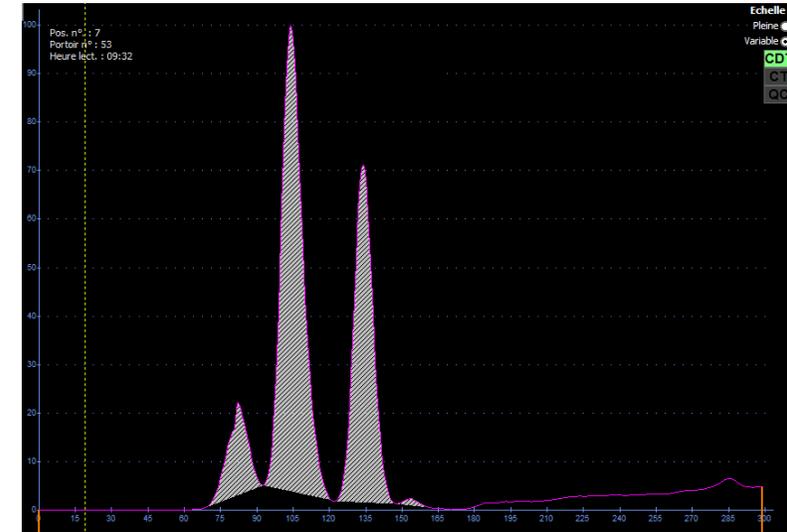
Témoins + variants n = 23
CDG-I n = 5

Alcooliques n = 6
MAN1B1-CDG n = 4

Histogramme représentant les moyennes des proportions des glycoformes de l'haptoglobine dans les différents groupes



Profil de la transferrine d'un patient MAN1B1-CDG

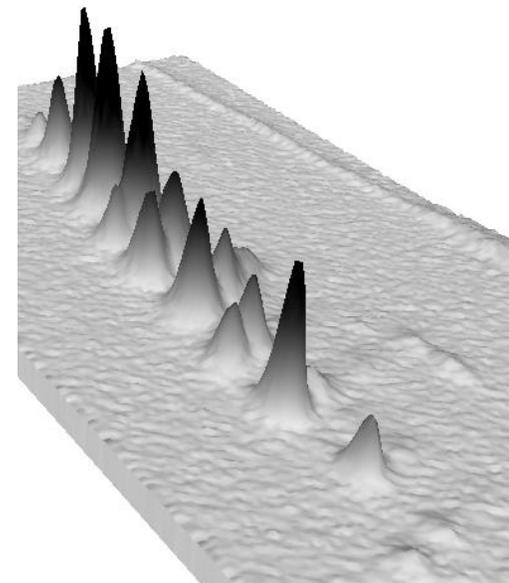


Conclusion :

- Alcooliques et CDG-I : tâches supplémentaires (U11 et U12 en majorité)
- MAN1B1-CDG : Augmentation significative de U2

Conclusions

- La 2-DE permet une séparation fine des glycoformes de l'haptoglobine
- Détermination des valeurs normales
- Les alcooliques chroniques présentent des glycoformes supplémentaires de poids moléculaire plus faible et de charge moins négative (absence de chaînes)
- Les CDG-I présentent les mêmes glycoformes anormales que les alcooliques
- Les patients MAN1B1-CDG semblent avoir un pourcentage de U2 plus élevé que celui des témoins
- **→ L'analyse des glycoformes de l'haptoglobine est prometteuse pour le dépistage de l'alcoolisme chronique et des CDG.**



Perspectives

A court terme :

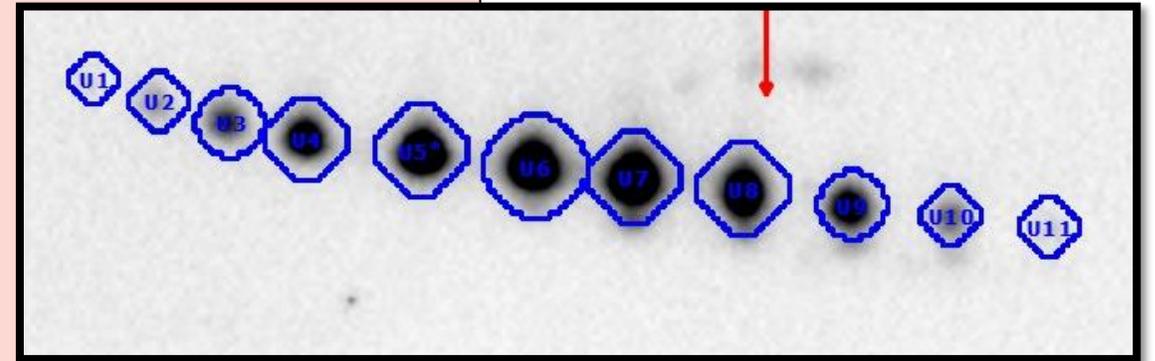
- Etudier plus de patients afin d'avoir des statistiques plus robustes
- Etudier également certains cas écartés de l'étude :
 - Forme 3-sialo de la transferrine > 6 %
 - Maladies hépatiques (bloc 3-2....)
 - CDG-II

A moyen terme :

- Caractériser les glycoformes d'intérêt (nombre de chaînes, sialylation...)

A long-terme :

- Dépistage par l'haptoglobine lorsque la transferrine n'est pas analysable



Merci de votre attention

Je remercie le Dr Arnaud BRUNEEL ainsi que Faly, Gregory et toute l'équipe du laboratoire de Biochimie de l'hôpital Bichat pour leur gentillesse, leur patience et leur disponibilité.