



# Désordres congénitaux de la glycosylation (CDG) et foie :

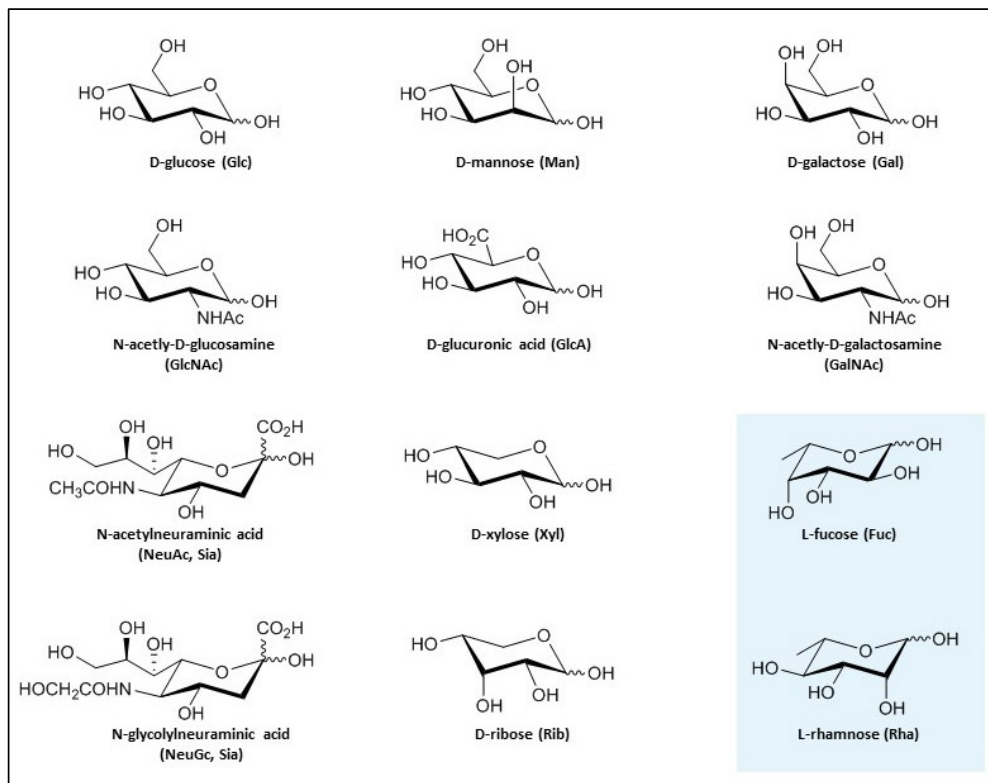
*Phénotypes clinico-biologiques et voies de traitements*





















Arnaud Bruneel  
18 octobre 2023



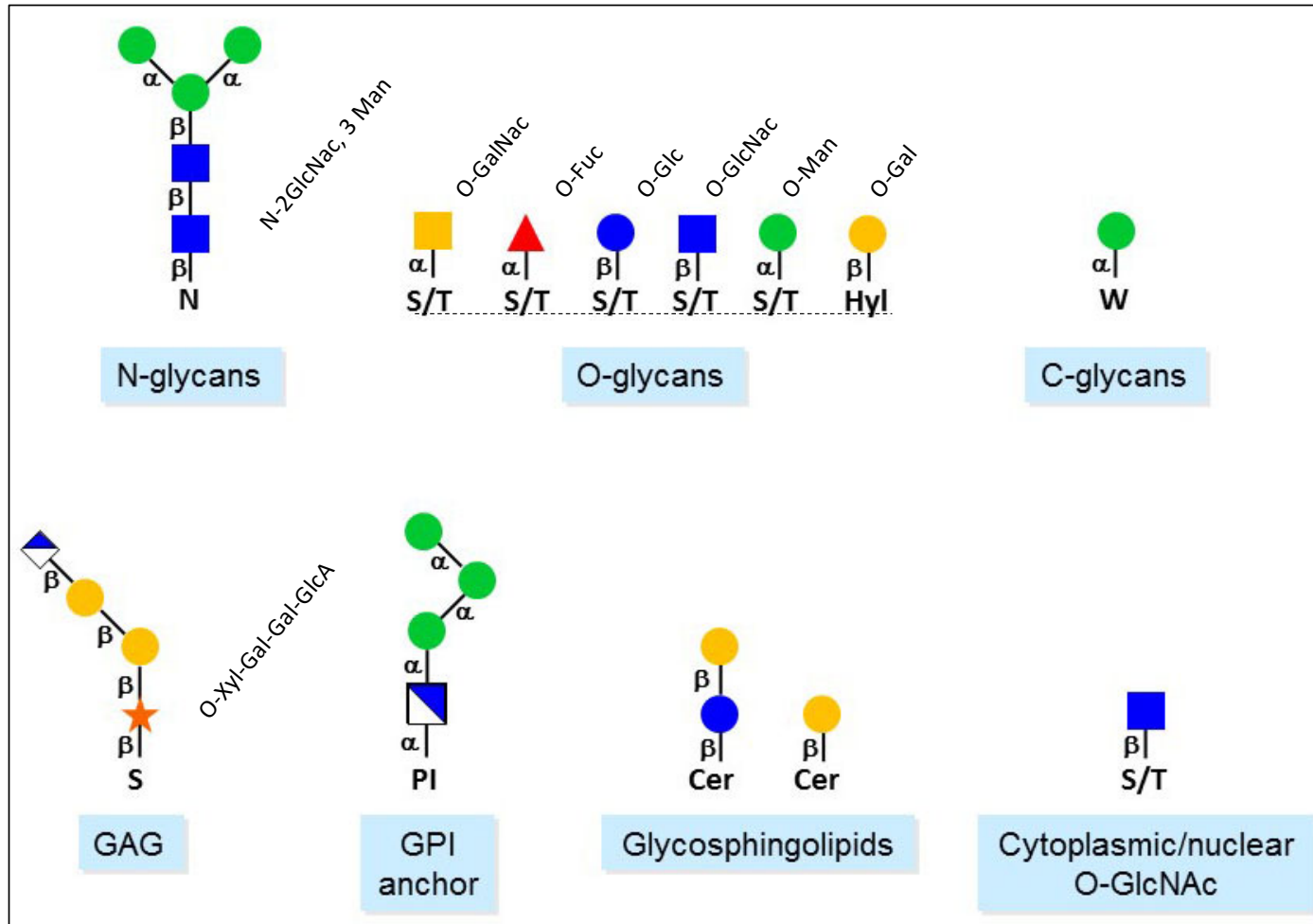
U1193  
Équipe C. Poüs

## Monosaccharides et nomenclature



Symbolic Representations of Common Monosaccharides and Linkages			
	Galactose (Gal)		Xylose (Xyl)
	N-Acetylgalactosamine (GalNAc)		N-Acetylneuraminic acid (Neu5Ac)
	Galactosamine (GalN)		N-Glycolylneuraminic acid (Neu5Gc)
	Glucose (Glc)		2-Keto-3-deoxynononic acid (Kdn)
	N-Acetylglucosamine (GlcNAc)		Fucose (Fuc)
	Glucosamine (GlcN)		Glucuronic acid (GlcA)
	Mannose (Man)		Iduronic acid (IdoA)
	N-Acetylmannosamine (ManNAc)		Galacturonic acid (GalA)
	Mannosamine (ManN)		Mannuronic acid (ManA)
<b>Other Monosaccharides</b>			
Use letter designation inside symbol to specify if needed  			

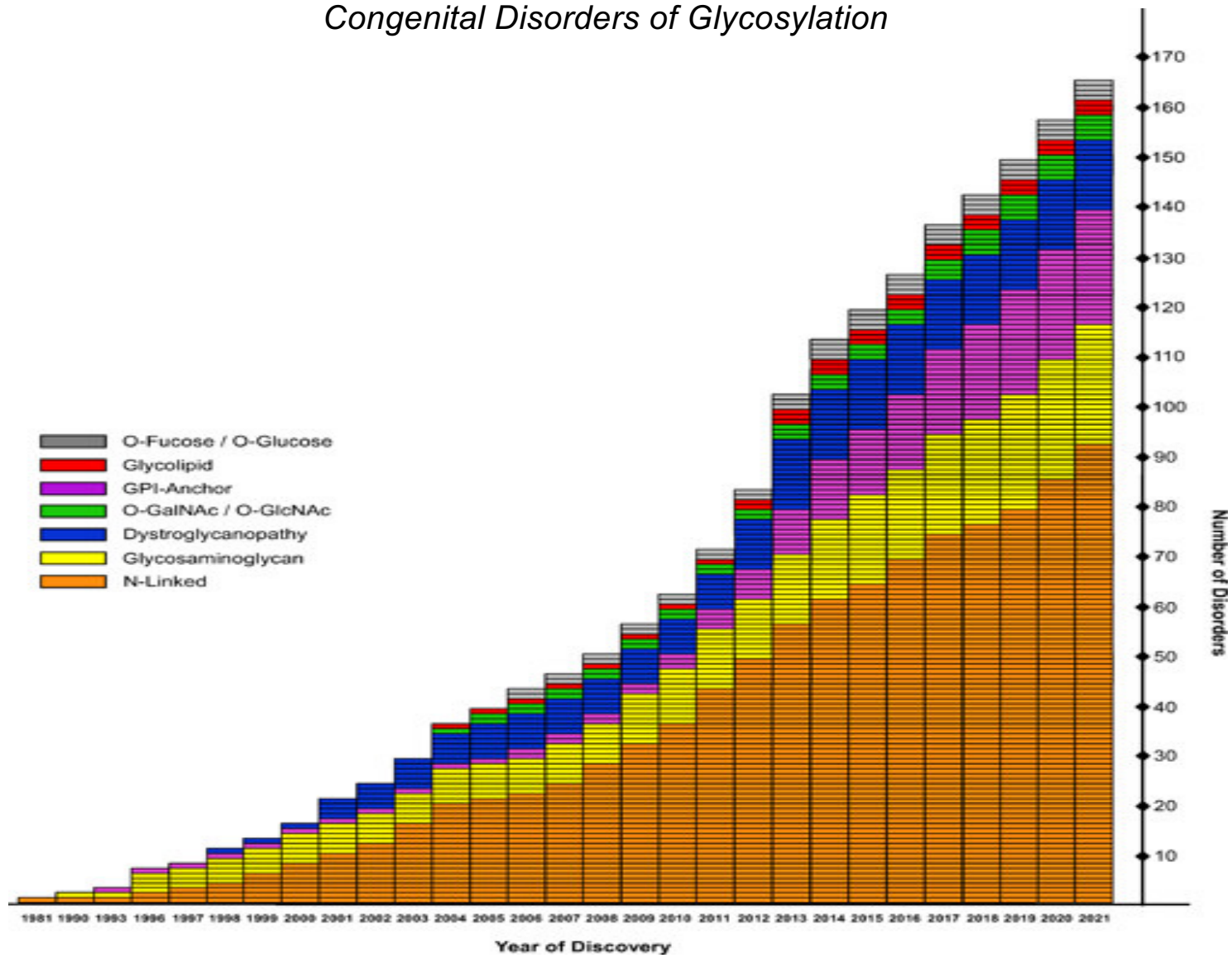
## Les différents types de glycosylation



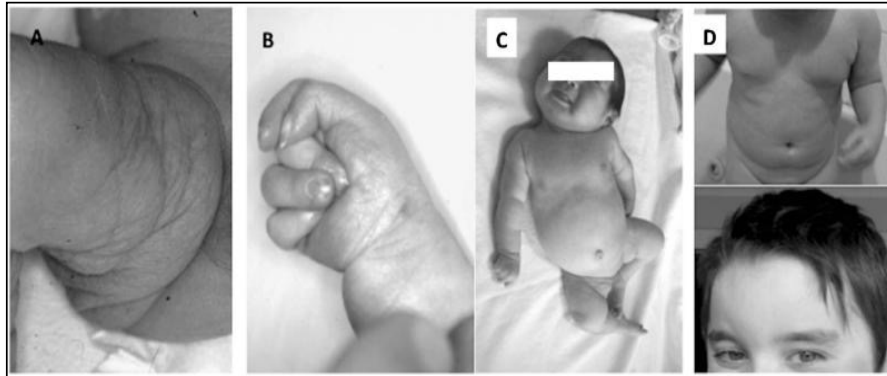
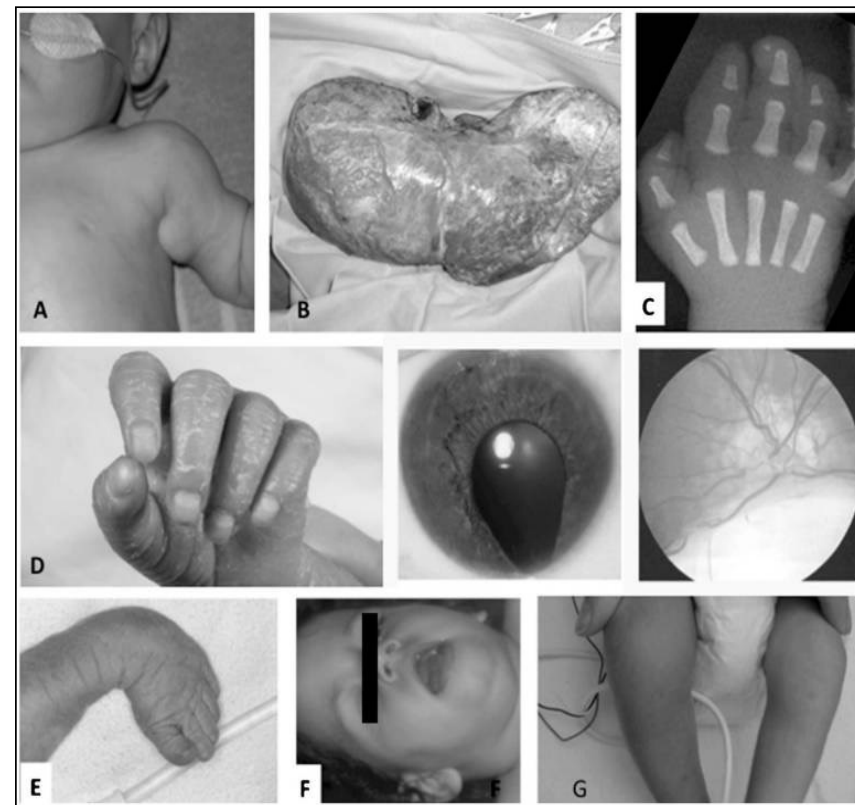
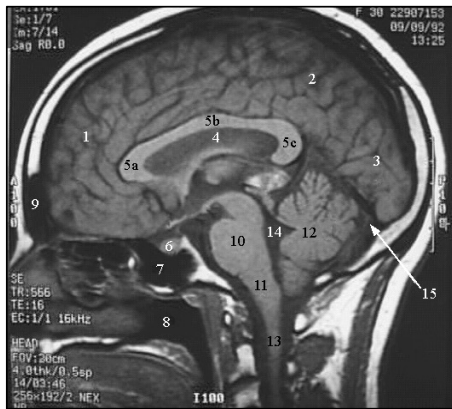
## *Congenital Disorders of Glycosylation* CDG

- Initialement définis (Jaak Jaeken, 1980) sur la base d'une anomalie de la **N-glycosylation de la transferrine** sérique
- CDGIa, CDGIIa...
- Aujourd'hui, toute maladie génétique associée à un défaut de **glycosylation** = CDG
- Plus de 160 CDG identifiés ; PMM2-CDG, MPI-CDG, MGAT2-CDG....
- Très majoritairement autosomiques récessifs
- CDG « secondaires » : fructosémie, galactosémie (accumulation Fru-1P, Gal-1P → troubles glycosylation)
  
- Dépistage et diagnostic moléculaire à l'hôpital Bichat (+ CEA Saclay, Lyon, Lille) + recherche clinique. En collaboration avec hôpitaux pédiatriques Français (Necker, Robert Debré, Lyon, Tours etc. etc.) et Européens (Euroglycan-Omics)
  
- Recherche fondamentale à Paris-Saclay (UMR1193), en collaboration avec laboratoires français (Lille, CEA...) et européens (Leuven, Nijmegen, Heidelberg... Euroglycan-Omics) - USA
  
- Cliniquement, « **tout est possible dans les CDG** »
- Signes cliniques neurologiques, **hépatiques**, cutanés, osseux, dysmorphie ... gravité très variable
  
- Peu de traitement (mannose, galactose, manganèse...)

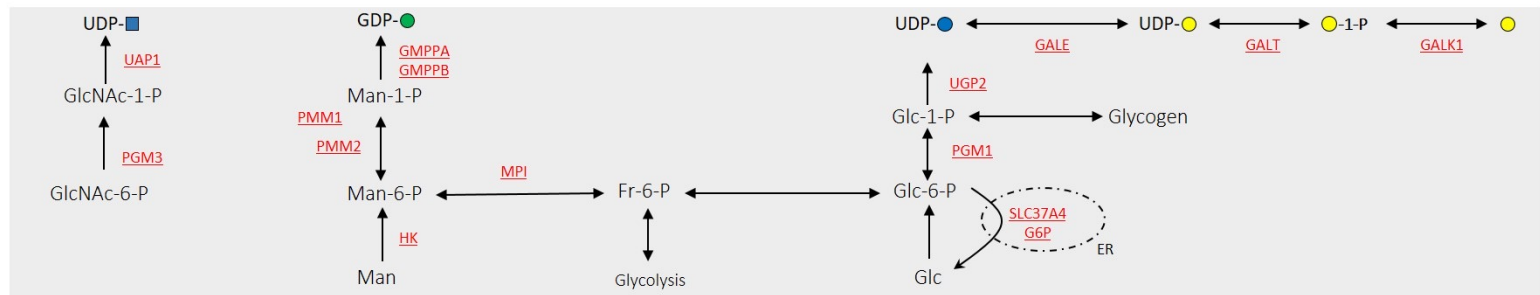
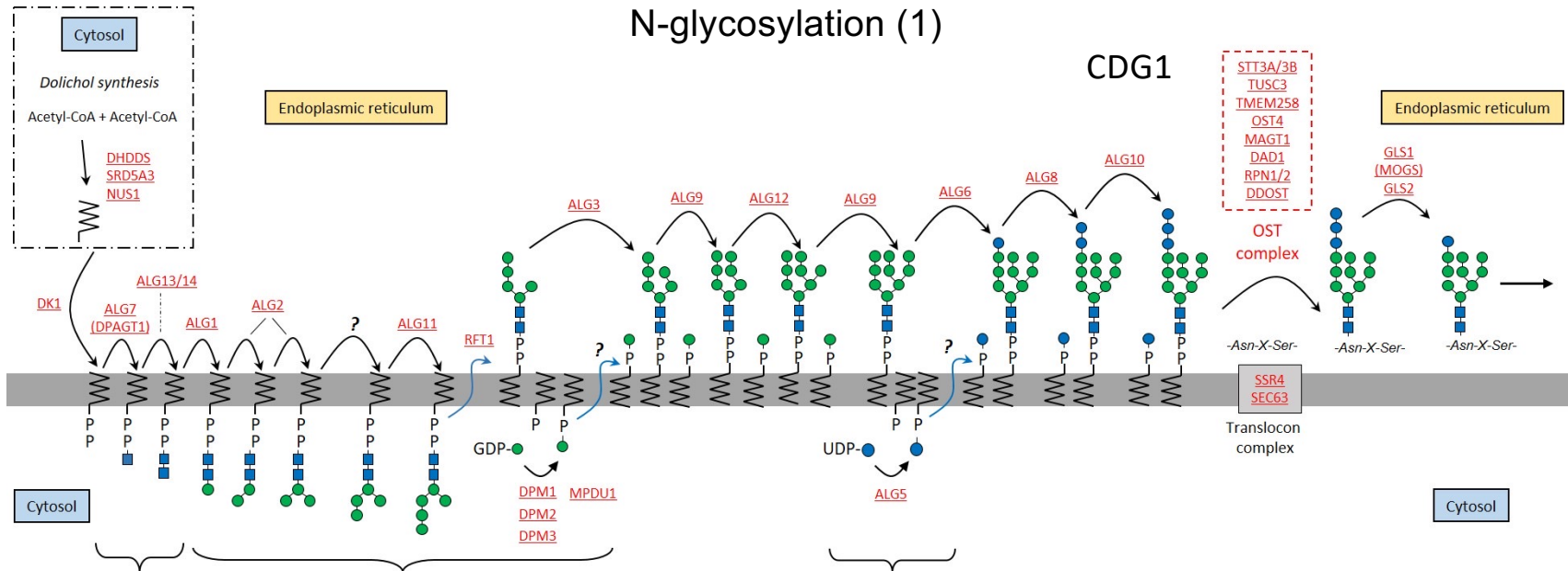
## Congenital Disorders of Glycosylation



# CDG : clinique

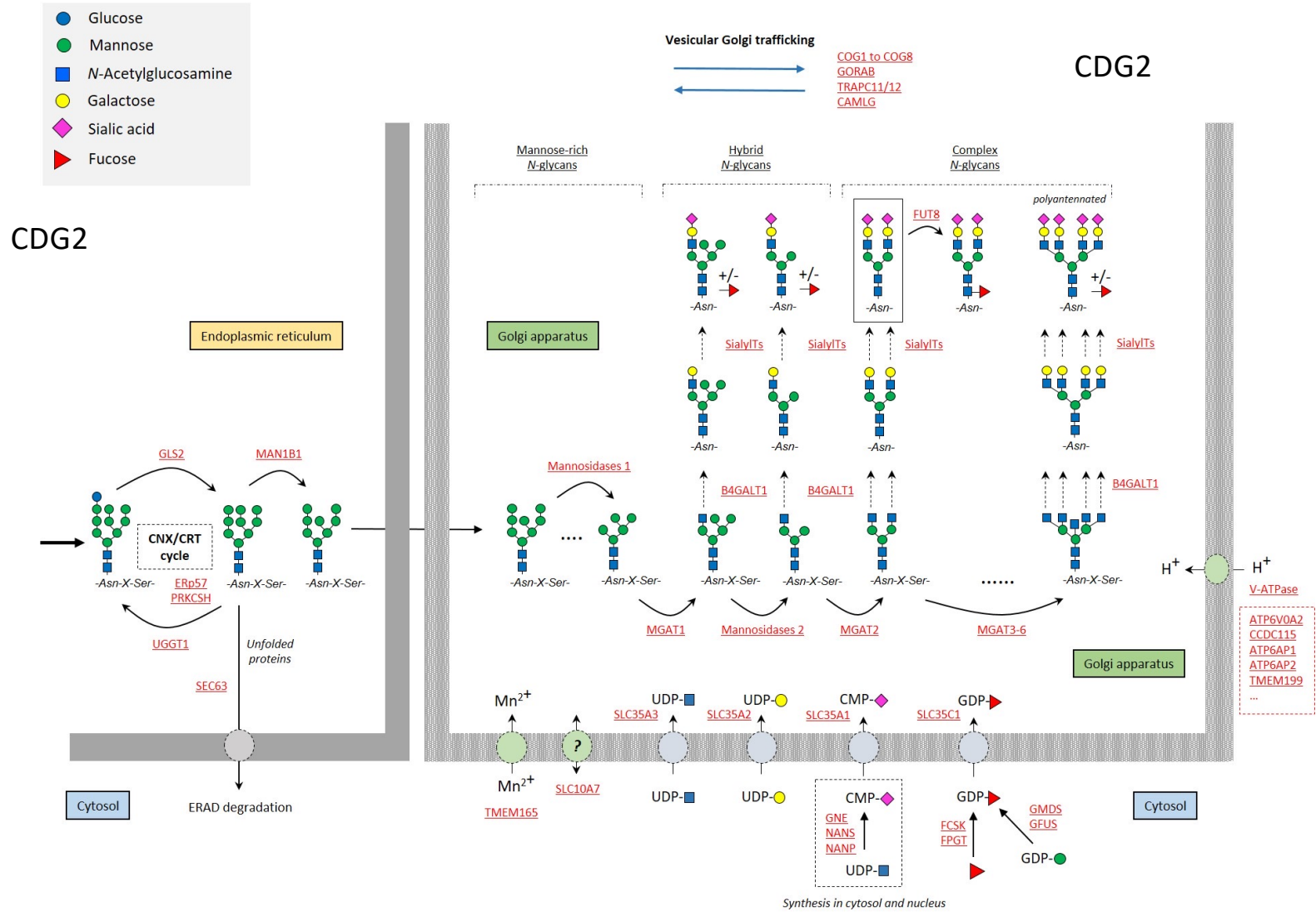


P. de Lonlay



- Dolichol
- N-Acetylglucosamine
- Mannose
- Galactose
- Glucose

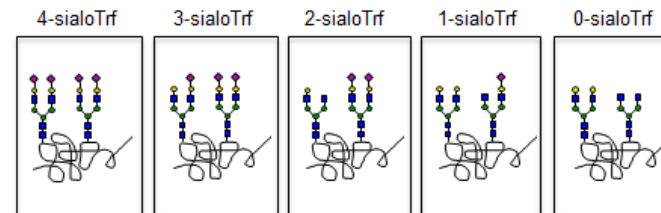
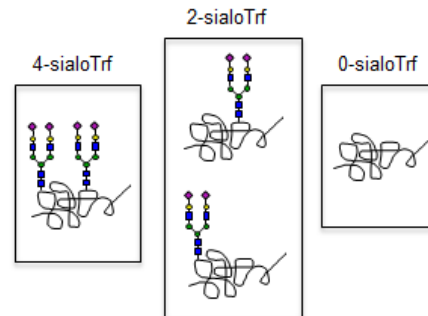
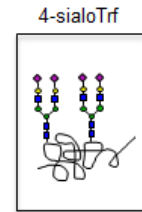
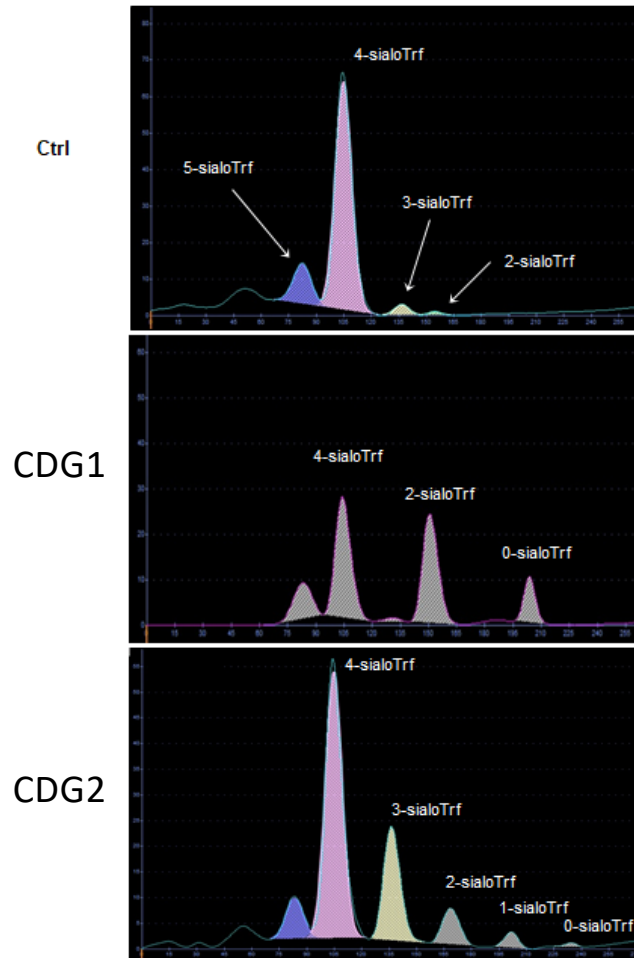
# N-glycosylation (2)





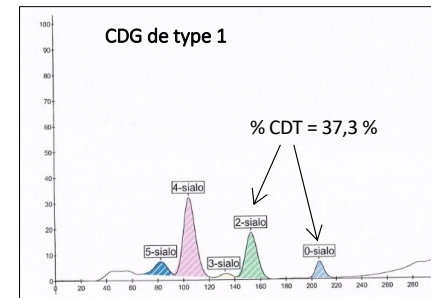
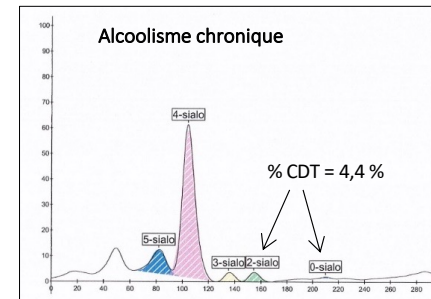
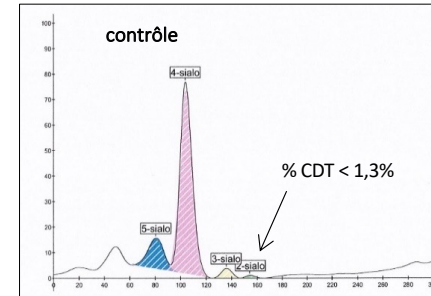
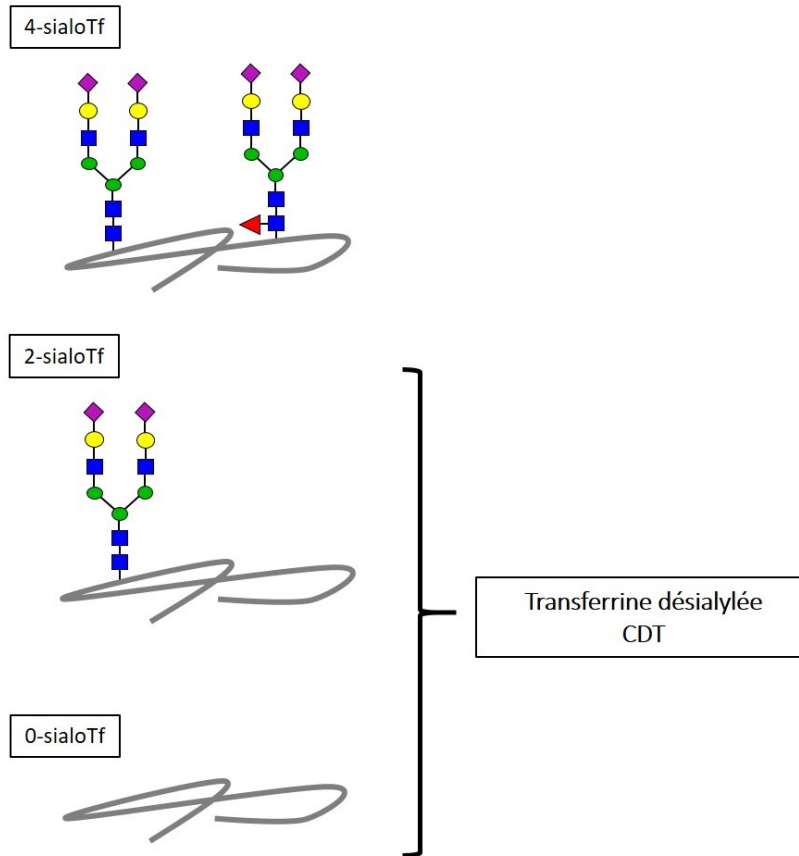
# Électrophorèse capillaire de la transferrine

Sérum, plasma hépariné



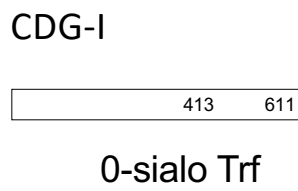
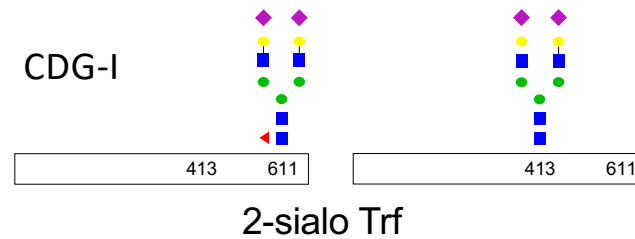
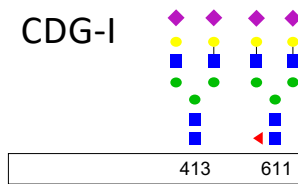
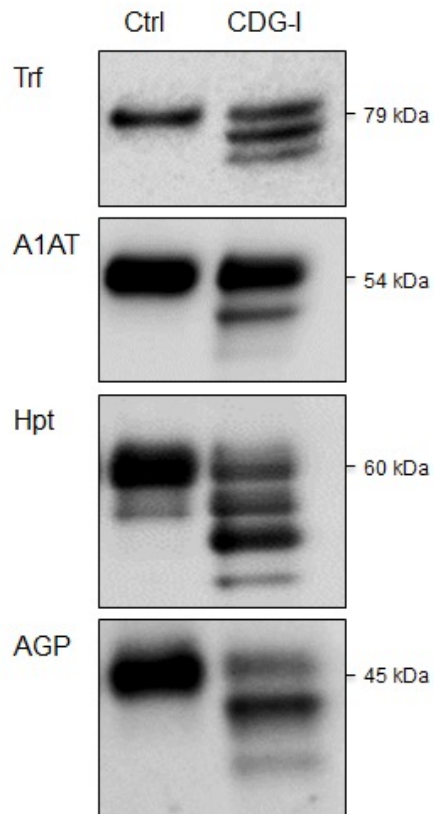
**CDT : 2-sialo + 0-sialo**  
**Marqueur de l'alcoolisation chronique**

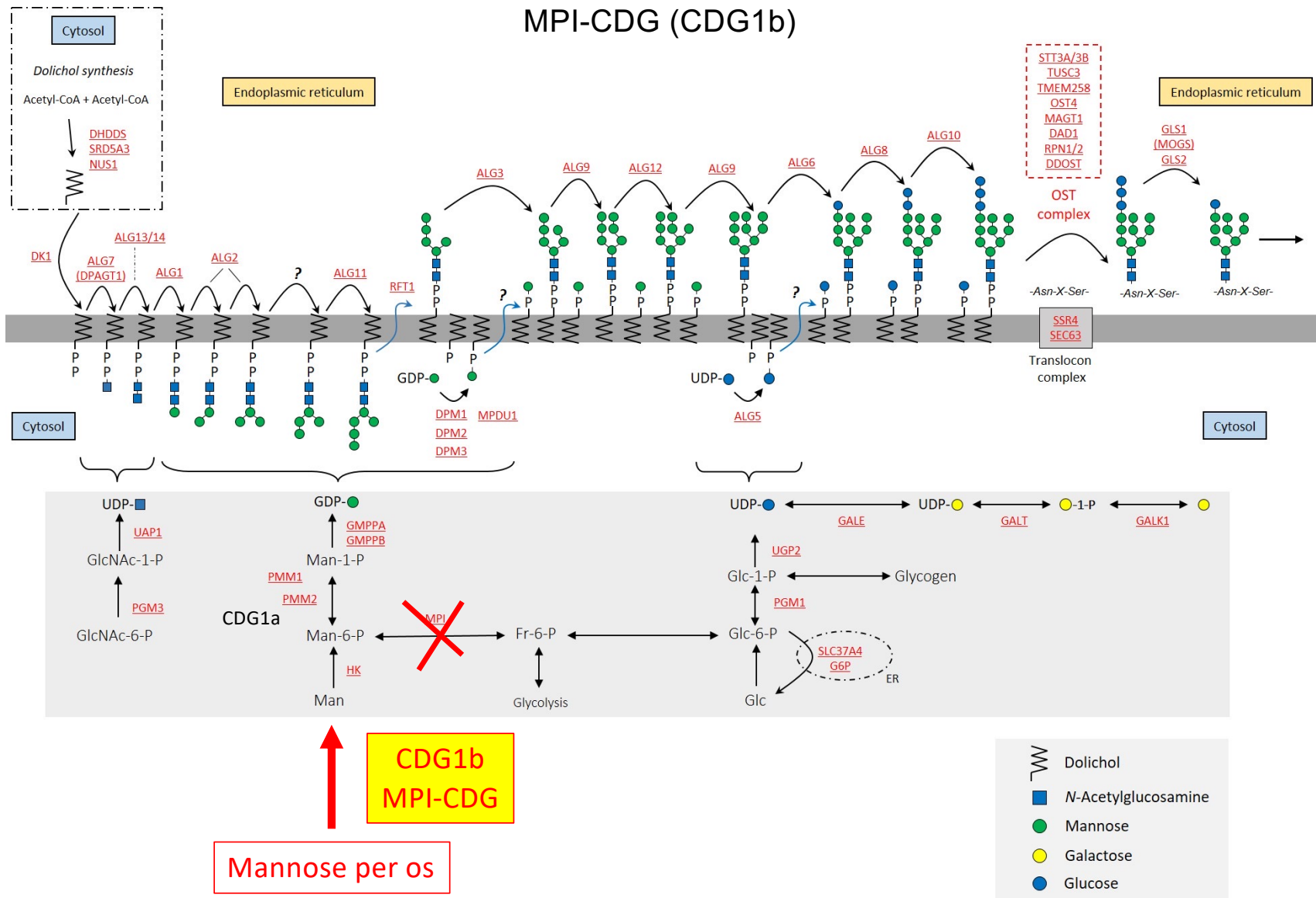
CDT = *carbohydrate deficient transferrin*  
Marqueur de l'alcoolisme chronique



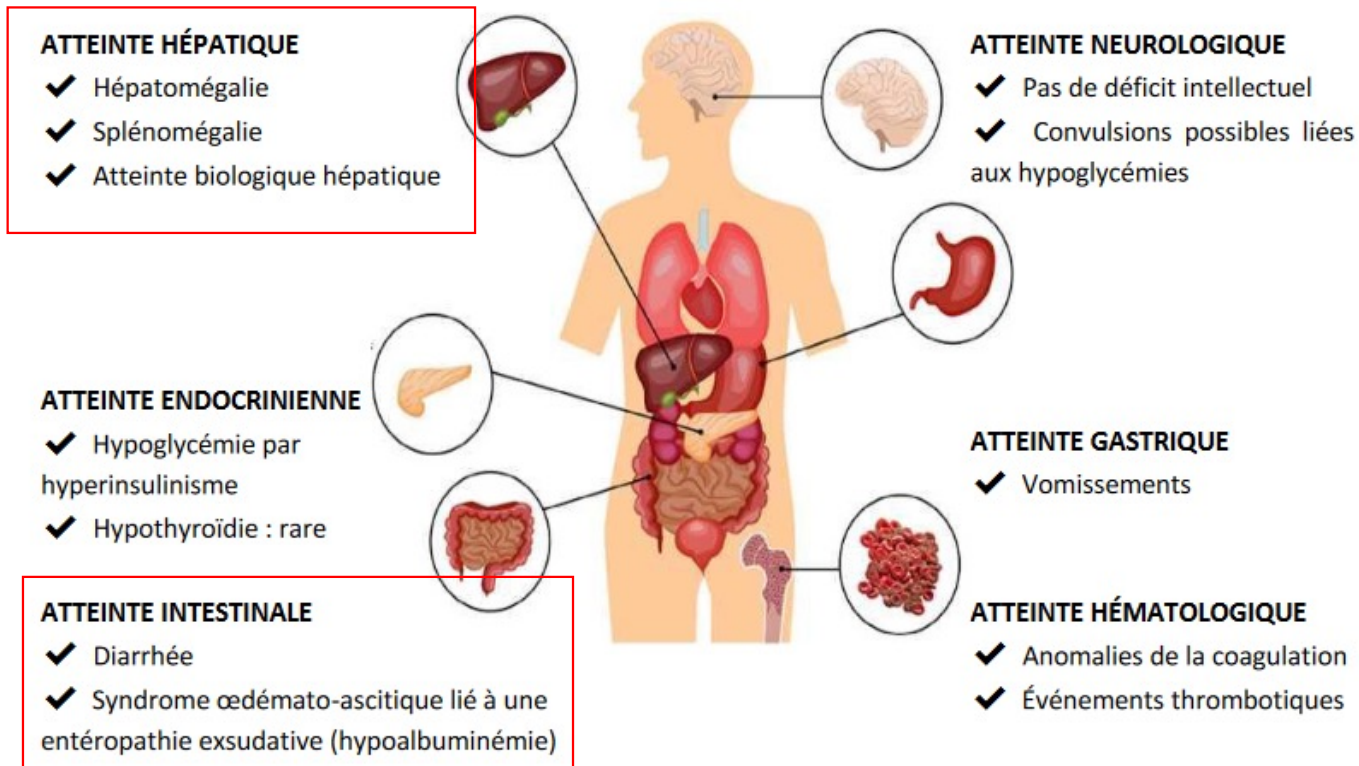
# Western-blot des glycoprotéines sériques

*Plasma, sérum, Guthrie*





## MPI-CDG (CDG1b) Clinique



**FIGURE 2** | Caractéristiques cliniques et anomalies biologiques les plus fréquentes dans le MPI-CDG. La triade classique des symptômes dans le MPI-CDG associe des symptômes digestifs, hépatiques et endocriniens, alors que l'atteinte neurologique est absente. La figure présente la liste des symptômes les plus courants avant le traitement par mannose.

## MPI-CDG (CDG1b) Traitement

### **Mannose par voie orale**

La dose initiale recommandée est administrée **toutes les 4 à 6 heures** et varie entre **150 et 170 mg/kg/prise** (soit 0,5-0,75 g/kg/jour). Chez l'adulte, une dose de **12 à 20 g** par jour est probablement suffisante (cette dose est à moduler en fonction de la tolérance digestive).

Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS) :

[https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-09/220817\\_mpi-cdg\\_pnds\\_version\\_finale\\_pnds.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-09/220817_mpi-cdg_pnds_version_finale_pnds.pdf)

## CDG Ib et foie

# Revue de 9 cas cliniques centrée sur l'atteinte hépatique

### Centres cliniques participants :

- Necker
- Robert Debré
- Lille
- Nantes
- Genève

### Coordination du travail :

- M Girard (Hépatologie)
- M Fabre (anapath)
- P De Lonlay (métabolisme)

### Participant également:

- A Bruneel (biochimie)
- D Borgel (hémostase)

## Signes cliniques fréquents

- Hépatomégalie (100 %) avec atteinte de type **fibrose hépatique congénitale** (100 %) lorsque la biopsie est réalisée
- **Hypertension portale** cliniquement parlante dans 50 % des cas (parfois grave nécessitant dérivation chirurgicale)
- **Diarrhée** (100 %) avec entéropathie exsudative (70 %)
- **Hypoglycémies** (90 %)
- **Anémie chronique** (70 %)
- Anomalie des **reins** (50 %) mais fonction normale
- Anomalies des **facteurs de coagulation** (100 % quand recherché) et persistant à minima après traitement (60 %) et avec thrombose dans peu de cas (20 %)
- **Mauvaise croissance** en taille (50 %)
- Anomalies **neurologiques minimales** (40 %): mauvaises performances scolaires mais pas d'atteinte neurologique majeure



## Fibrose hépatique Congénitale « like »

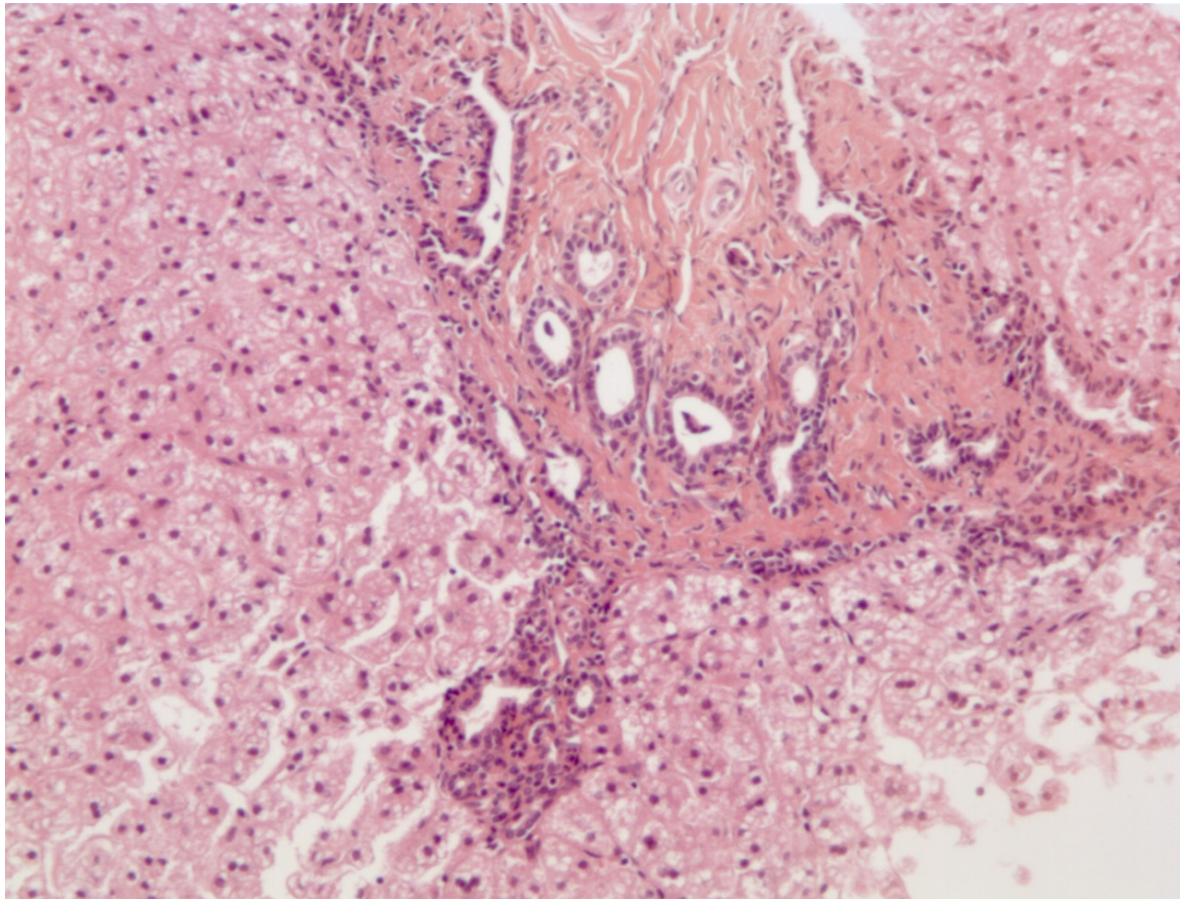


Photo : Monique Fabre

## Lymphangiectasies intestinales

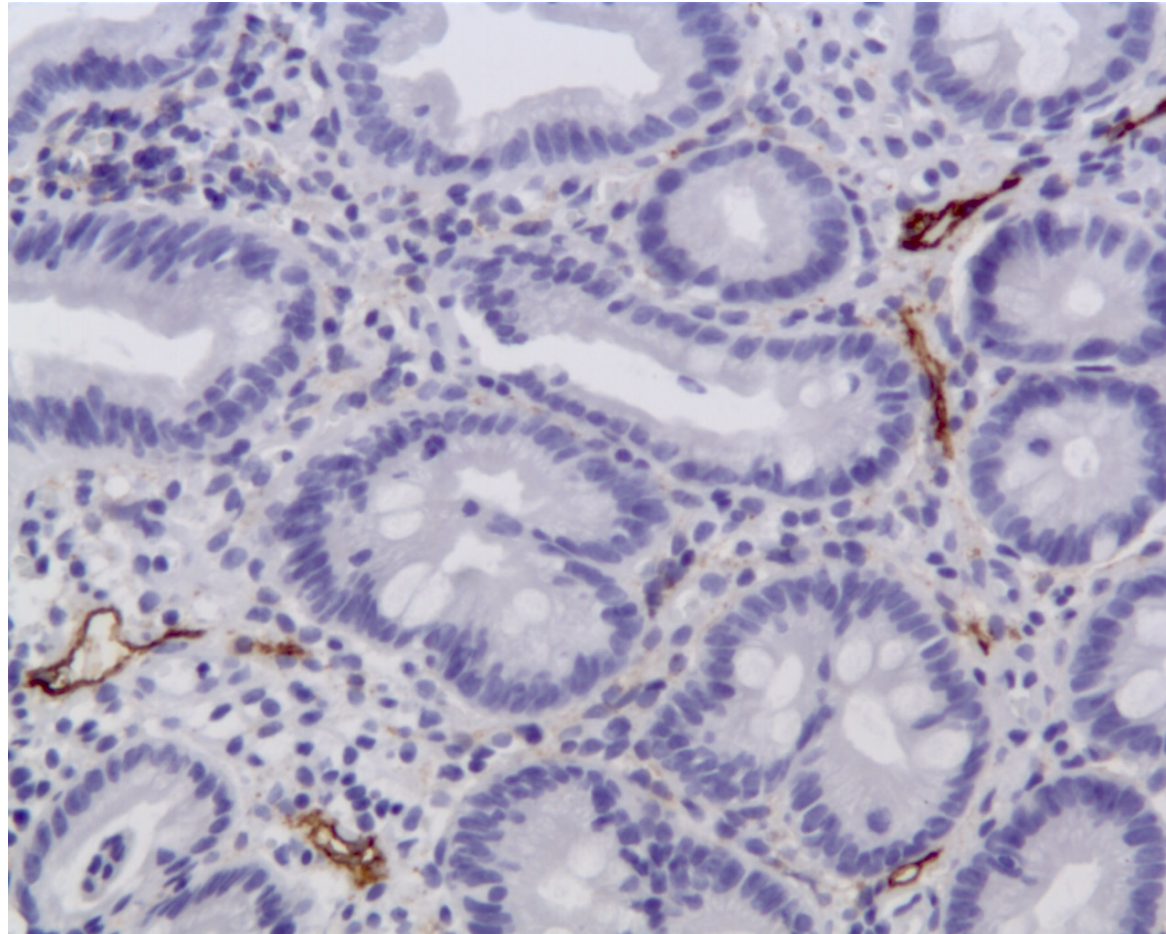


Photo : Monique Fabre

## Évolution après traitement par mannose per os

- **Atteinte hépatique inchangée** : hypertension portale persistante chez les patients atteints
- **Diarrhée** : régression partielle ou intermittente, mais disparition de l'entéropathie exsudative
- **Hypoglycémies** : disparition
- **Anémie chronique** : persistance
- **Anomalie des reins** : persistance si existe avant
- Anomalies des **facteurs de coagulation** : persistant à minima (60 %) de façon fluctuante - thrombose dans peu de cas (20 %)

## Diagnostic

• Début des signes cliniques précoces :  
6m, 3m, NN, 3m, J20, 2m, 3m, J10, 6m

• Début du mannose très variable :  
10a6, -, 6a4m, 4m, 4m, 6m, 7m, 1m1/2, 6a10m

## Atteinte hépatique

**HM = 100 %**  
SM = 50 %

PBH réalisée 7/9  
= **100 % aspect de « fibrose  
hépatique congénitale »**

Hypertension portale cliniquement évidente : 3/9  
1 ligature VO  
1 dérivation porto-systémique  
1 suivi débutant

Élastométrie hépatique:  
E : augmentée chez ceux réalisée quand HTP (2/3)  
E: normale chez 3 patients sans HTP (seulement 3/6 testés)

Devenir au long cours : HTAP et Shunts intra-pulmonaires +++

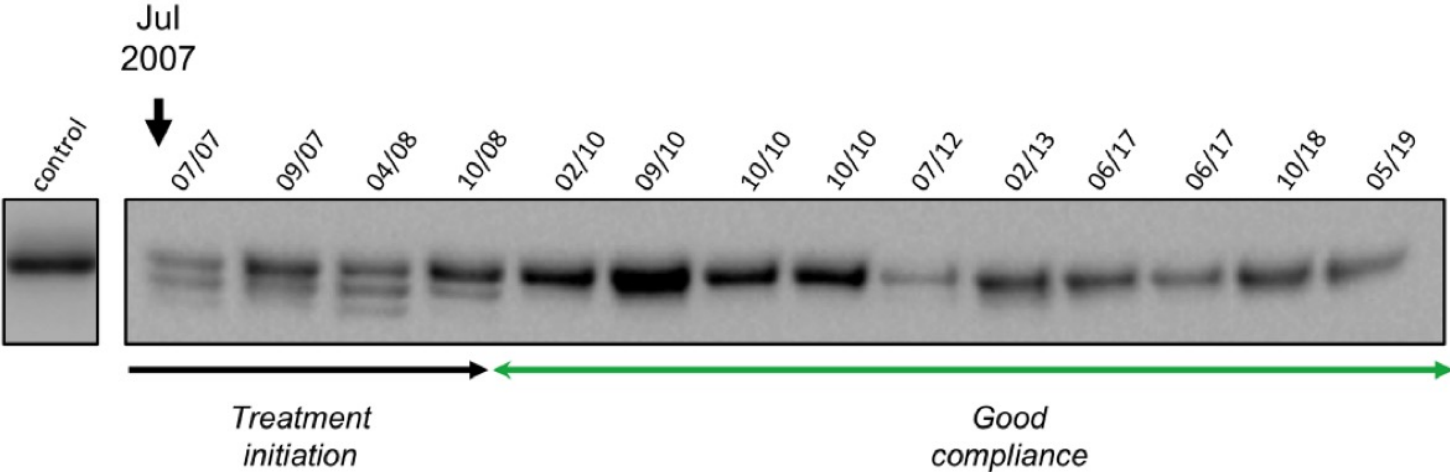
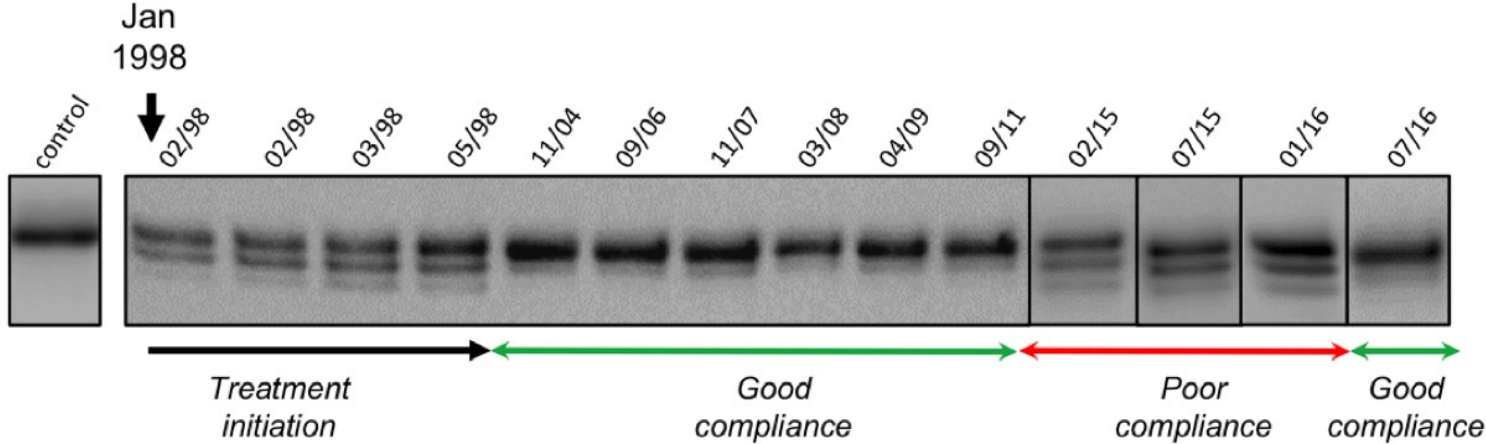
## Atteinte digestive

**Diarrhée = 100 %**  
Entéropathie exsudative = 7/9  
Lymphangiectasies = non explorées 4/8 et explorées 4/8 : + sur 2/4  
Inclusions lipidiques des entérocytes : 2/4

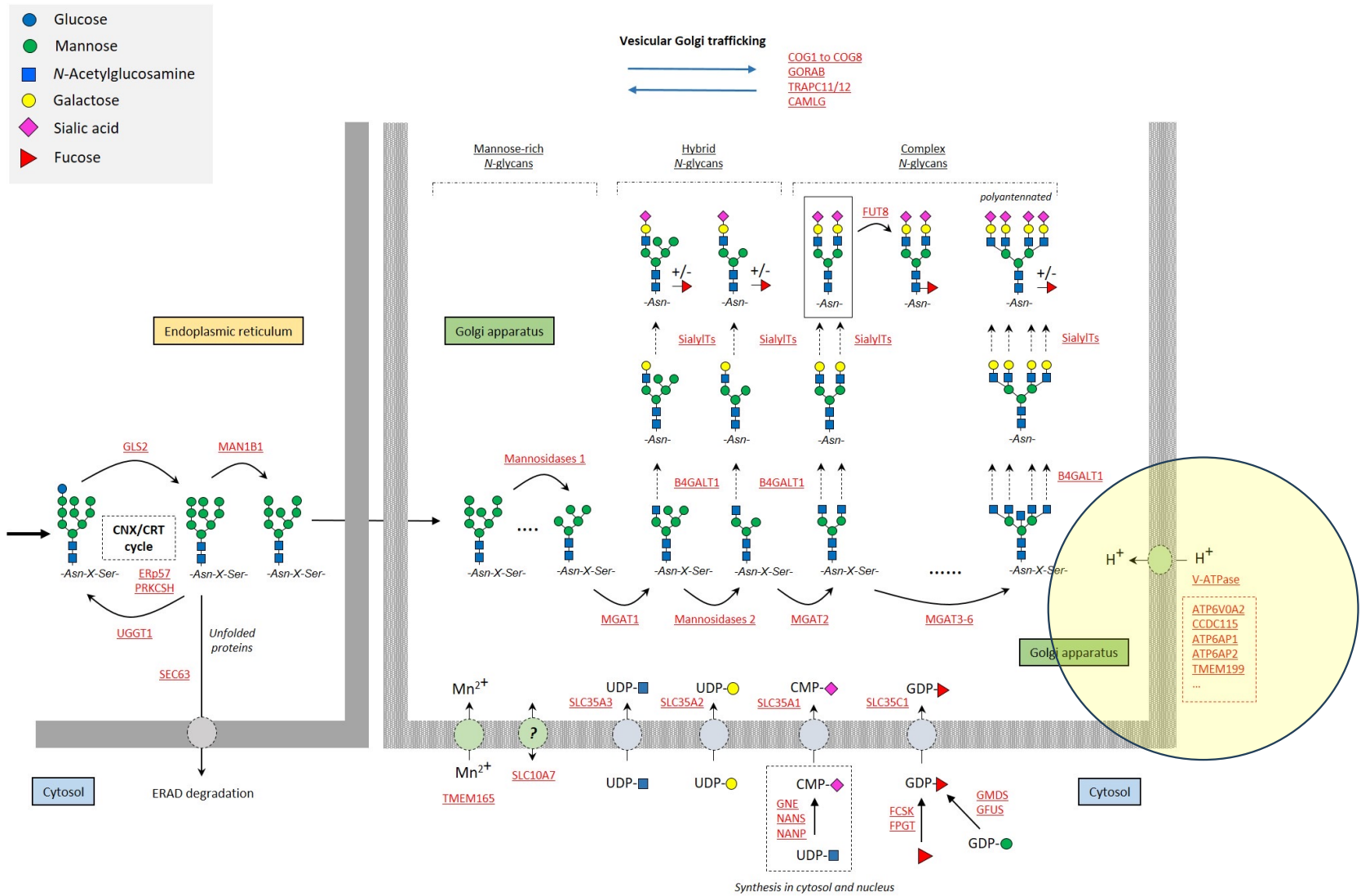
## Autres atteintes

- **Hypoglycémie** : 8/9
- Baisse des **facteurs de coagulation** : 5/8 malgré le traitement par Mannose
- **Thrombose** : 2/9 → thrombus OD, thrombophlébite sous microval
- **Anomalies des reins** : (2 non-décrits) mais 4 anomalies sur les 7 étudiés
  - Augmentation de taille (3/4)
  - Hyperéchogénicité (4/4)
  - Dédifférenciation corticomédullaire (2/4)
- **Anémie** : 7/9 mais 2 non-décrits
- **Croissance** : 4/8 mais 2 non décrits
  - 1DS adulte
  - 2DS à 14a
  - 1DS à 8a
  - 2DS à 3m (fémur 13èp en anténatal)
- **Neurologie** : anomalies 4/9
  - Retard de la marche et incoordination mais pas de retard de développement ensuite
  - Convulsion à 5m (hypoNa et hypoalbu), puis retard des acquisitions motrices ensuite et perdu de vue
  - Difficultés scolaires en CE1, puis bien ensuite
  - Retard de la marche et retard des acquisitions à 3 ans, suivi en CAMPS évaluation neuropsych

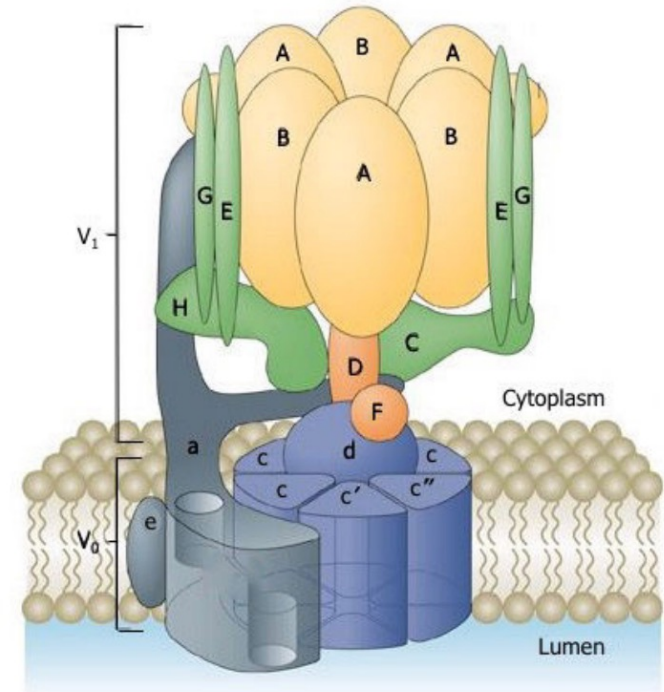
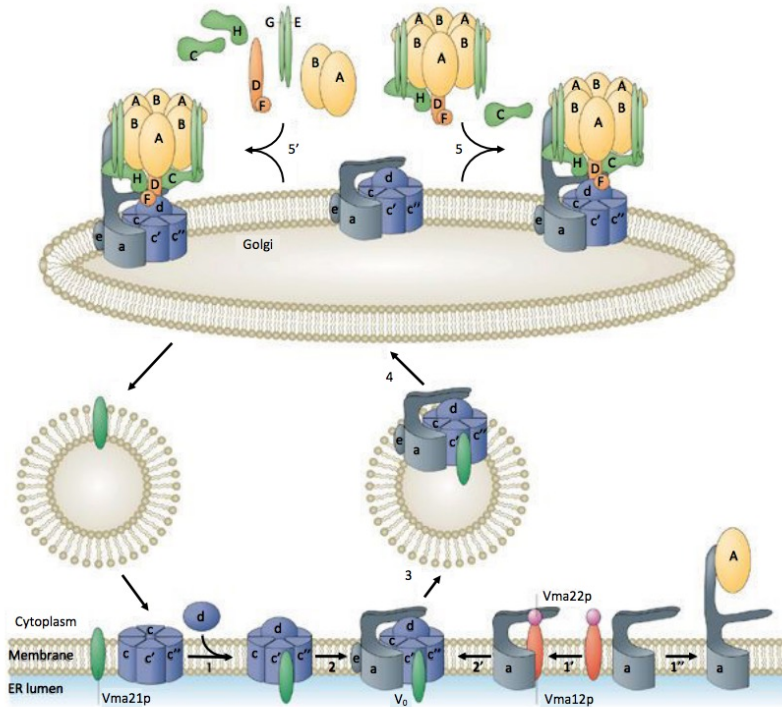
MPI-CDG (CDG1b)  
Mannose et profils de la transferrine



# N-glycosylation (2)



## V-ATPase



Forgac et al. 2007

Déficits **CCDC115**, **TMEM199**, **ATP6AP1**, **ATP6AP2** → inhibition V-ATPase, diminution acidification endosomes, altération Golgi

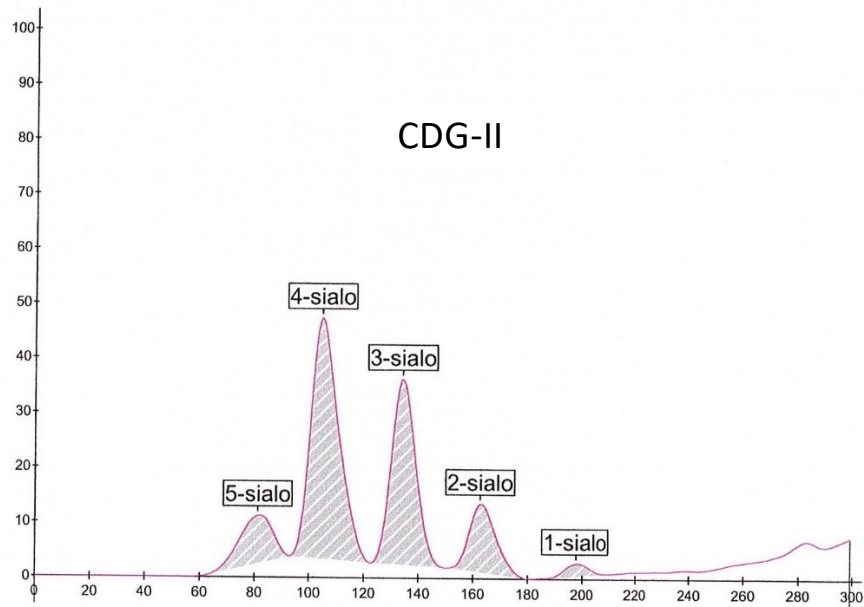
Mutations associées à des **CDG-II**.



# V-ATPase

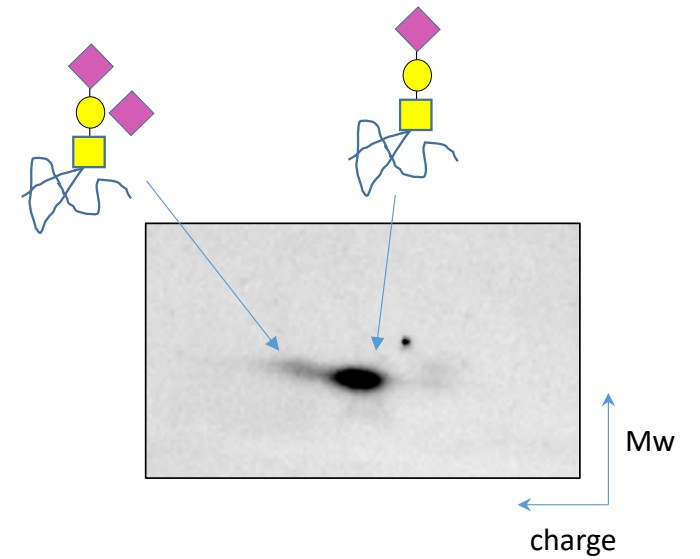
## Electrophorèse des isoformes de la Transferrine

( technique capillaire réalisée sur Capillarys 2 Flex Piercing - SEBIA )

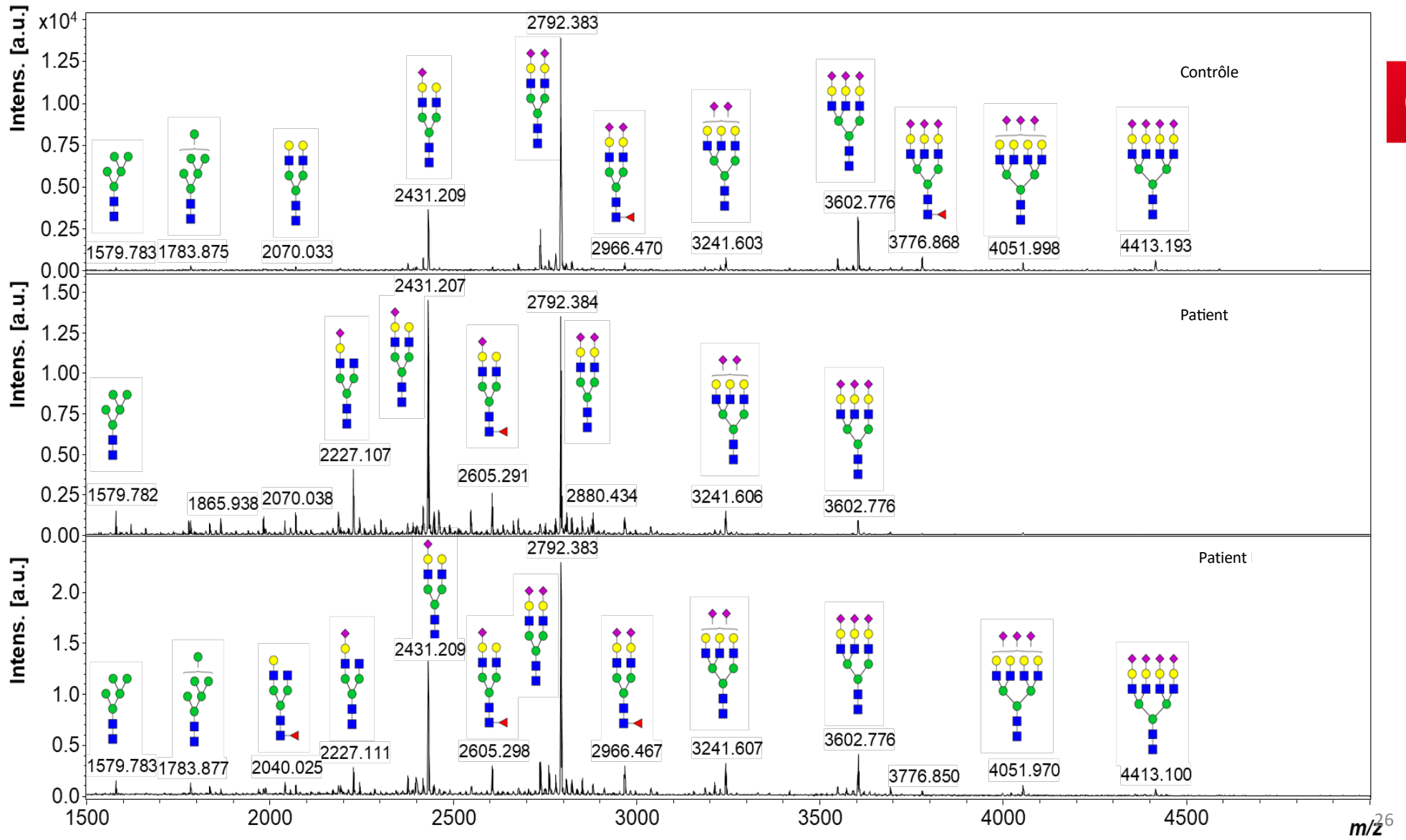


## 2D de l'apolipoprotéine C-III

(O-glycosylation type mucine)



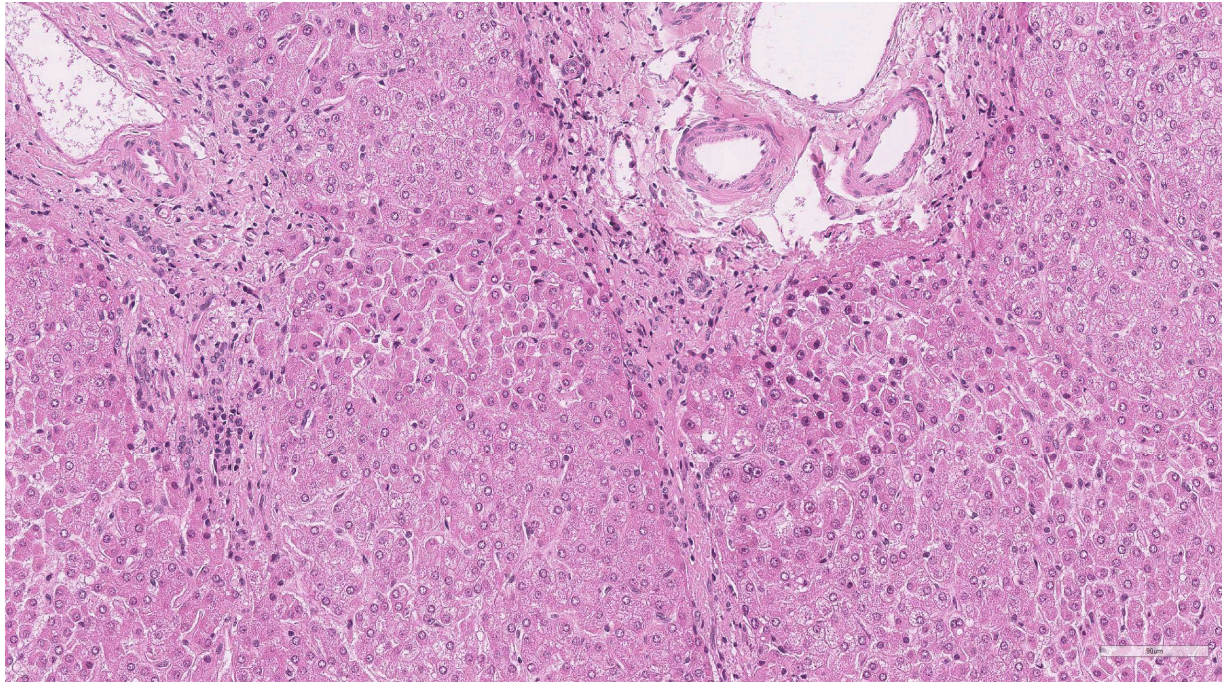
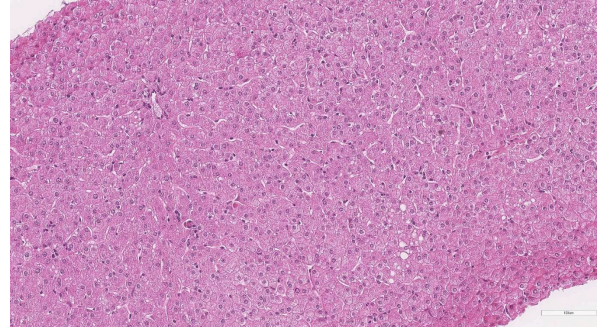
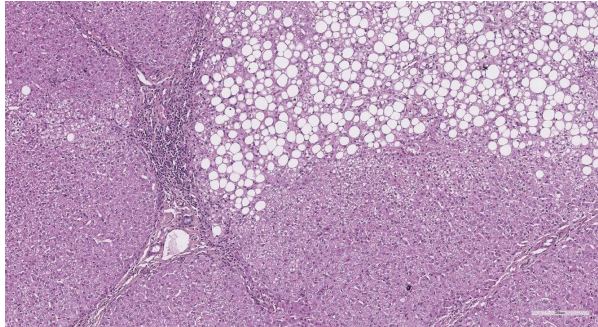
Déficit de la forme bisialylée de l'apoC-III



## CCDC115-CDG / TMEM199-CDG / ATP6AP1-CDG / ATP6AP2-CDG

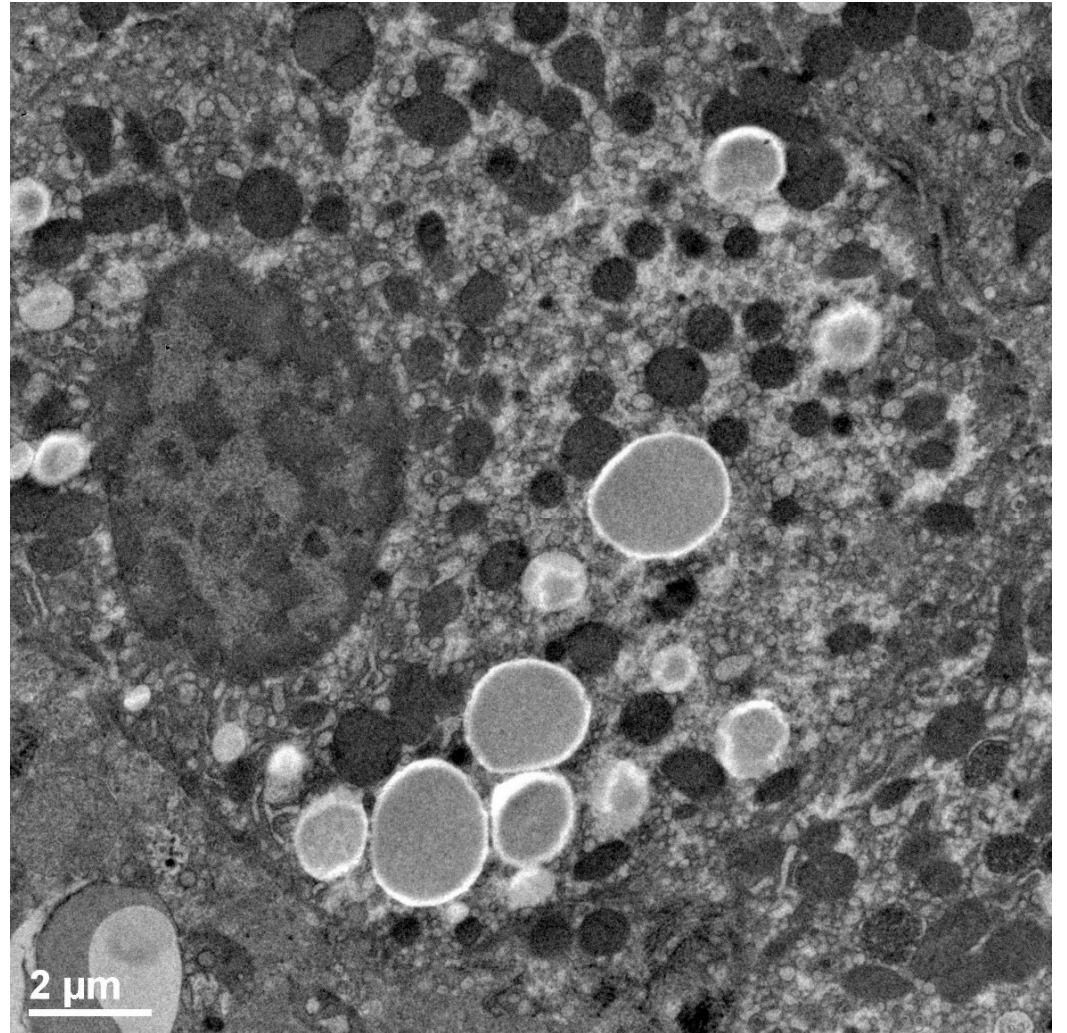
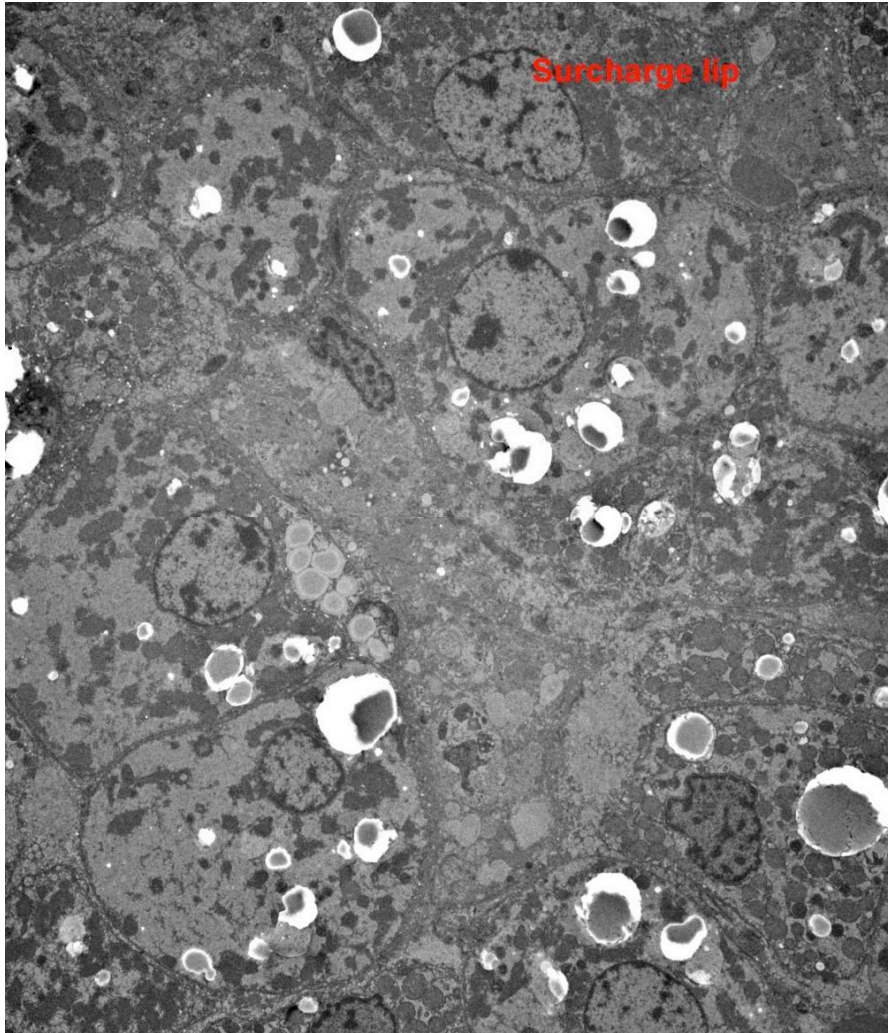
- Des CDG très « **hépatiques** » (exception : ATP6V0A2-CDG : Cutis laxa)
- Troubles neurologiques très inconstants
- **Fibrose, stéatose, cirrhose** ; un cas de transplantation
- Augmentation des transaminases
- Hypercholestérolémie, hyper-LDL, PAL augmentées
- Tableau clinico-biologique « **Wilson-like** » : cuivre bas, céruléoplasmine basse, REC (*exchangeable copper/total copper %*) augmenté
- ATP6V1F-CDG
  
- Troubles de l'autophagie

## ATP6V1F-CDG : Stéatose - nécrose

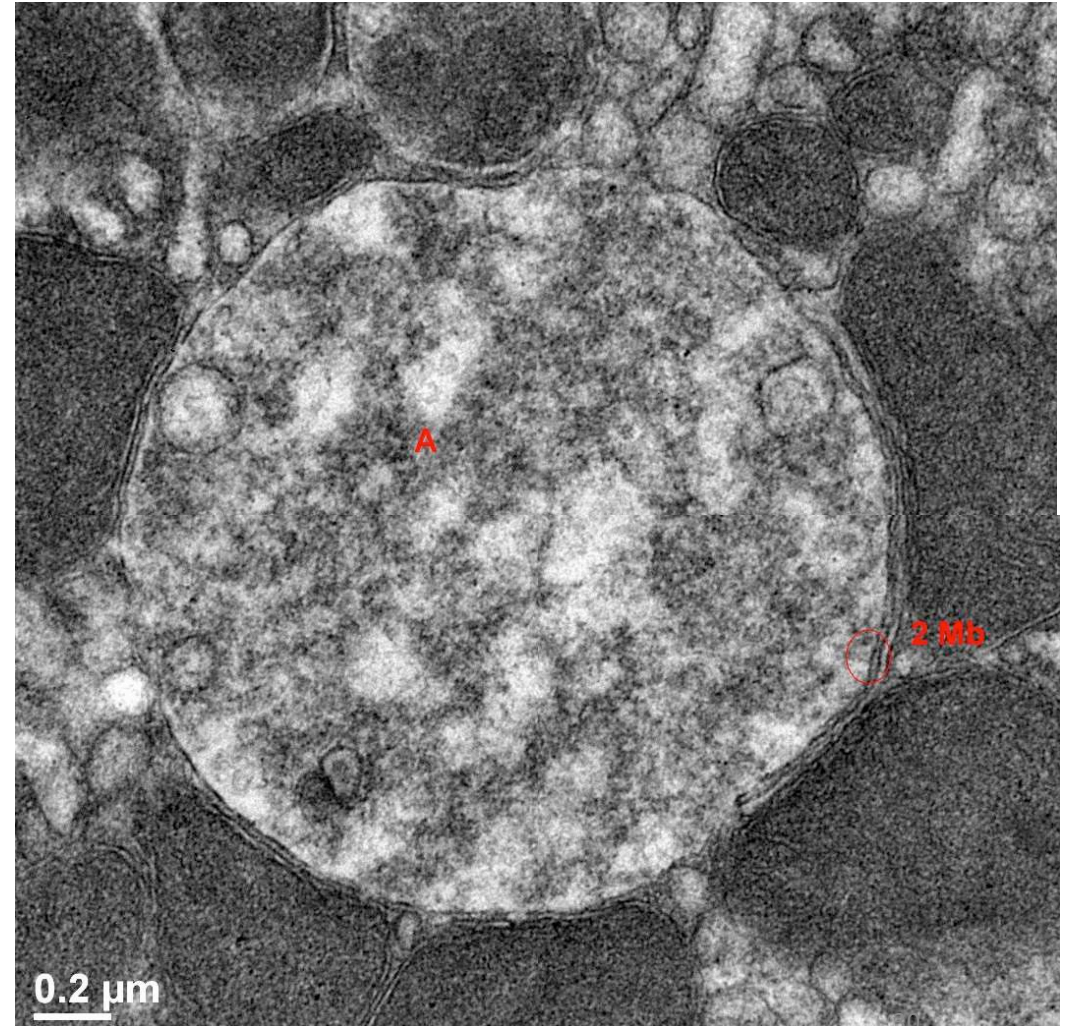
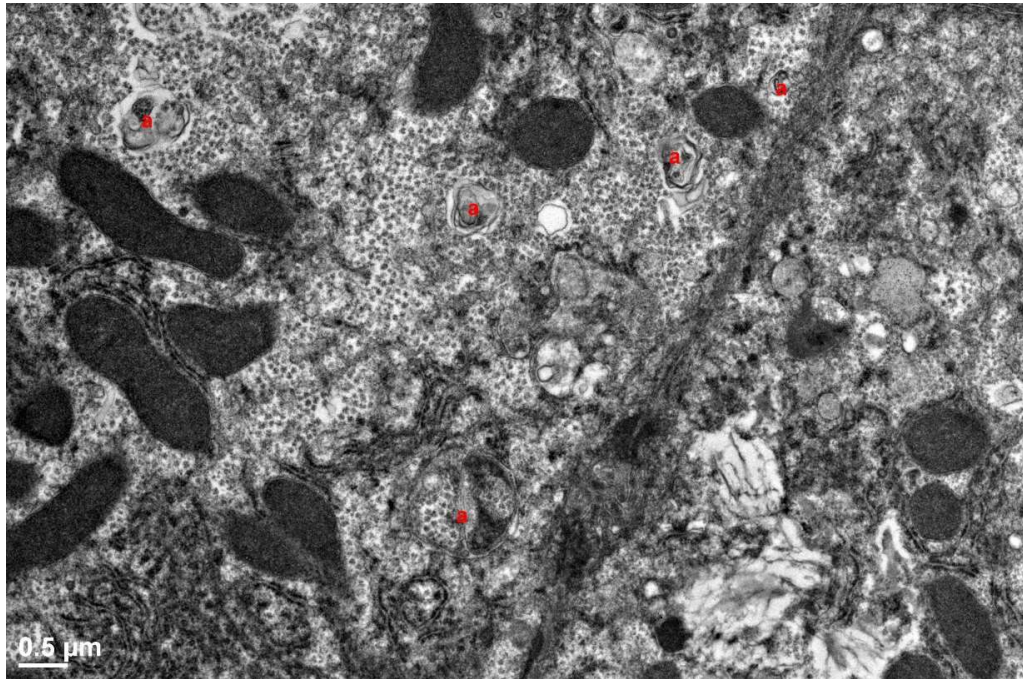


Pr Collardeau-Frachon

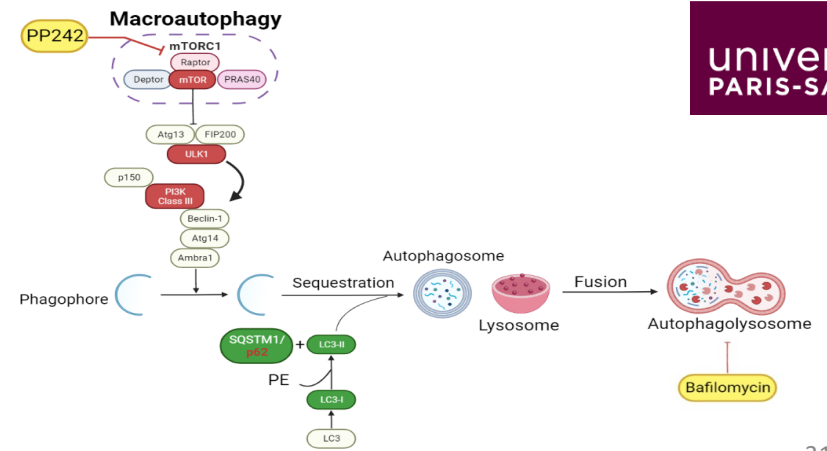
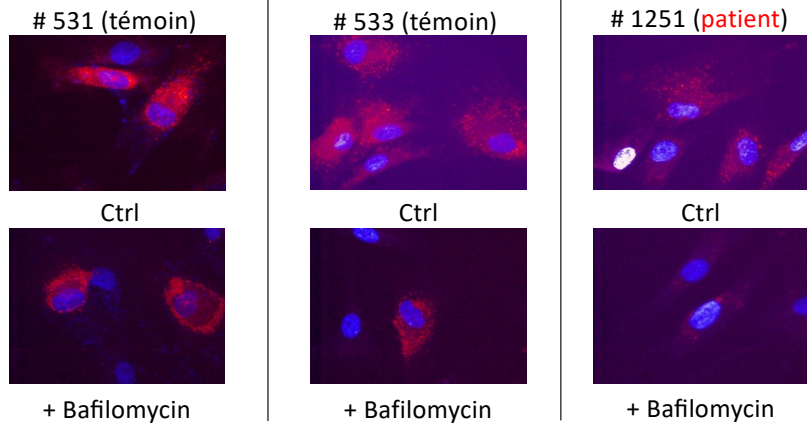
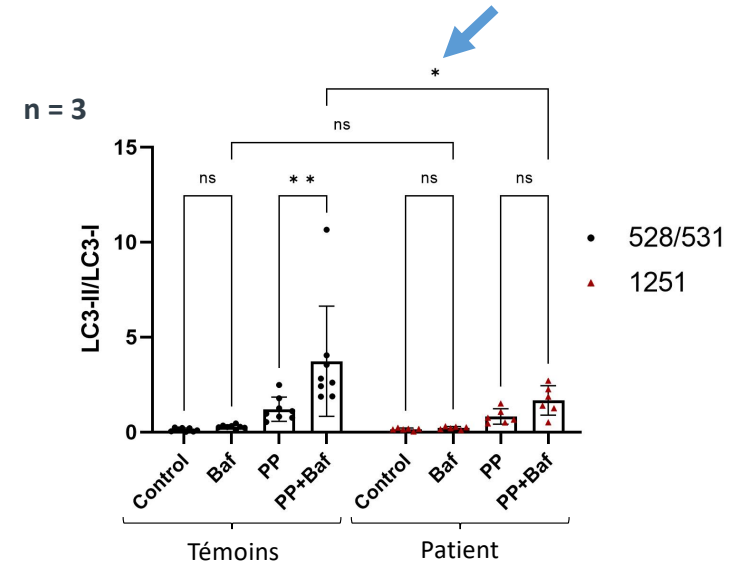
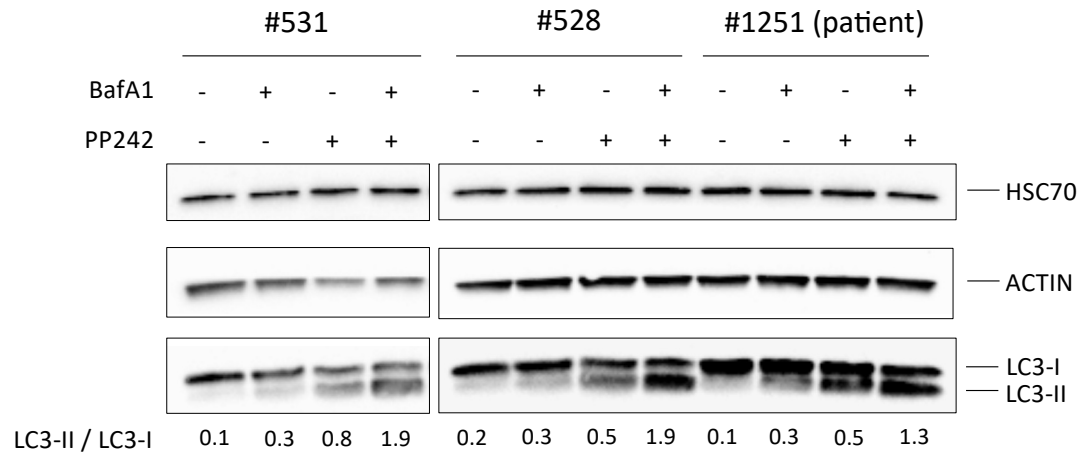
ATP6V1F-CDG



ATP6V1F-CDG



## Autophagie ATP6AP2-CDG





# Comme un « arrière-goût » de sucre

Dr Violette Goetz  
Service de Pédiatrie



# Contexte

- **ATCD familiaux** : Parents afghans **apparentés**. Pas d'ATCD notable
- **Pas d'ATCD médicaux notables**
- **Allaitement mixte**

J11 : Hospitalisation pour **hydrocéphalie obstructive sur hémorragie de la fosse postérieure**,  
pose d'une dérivation ventriculaire.

### Bilan étiologique

- **Fond d'œil**: normal
- **IRM cérébrale** : normale
- **Bilan hémostase** :
  - Dosage FXIII : 27 % (norme à 60 %), mais ne suffit pas à expliquer l'hémorragie spontanée
  - Glycoprotéines plaquettaires : pas de déficit
- **Métabolique** :
  - Pas d'acidose métabolique. Trou anionique normal. Pas d'hyperlactatémie.
  - CAA sanguins : erroné ; CAA urinaires : profil sans particularités
- **Génétique** : analyse chromosomique normale

**1 mois** : adressée par la PMI au CHR d'Orléans pour vomissements et perte de poids, selles décolorées pâleur. Pas de fièvre à domicile. Périmètre crânien normal.

**Cliniquement** : RAS

**Échographie transfontanellaire et TDM cérébrale** : stables

**Bilan** :

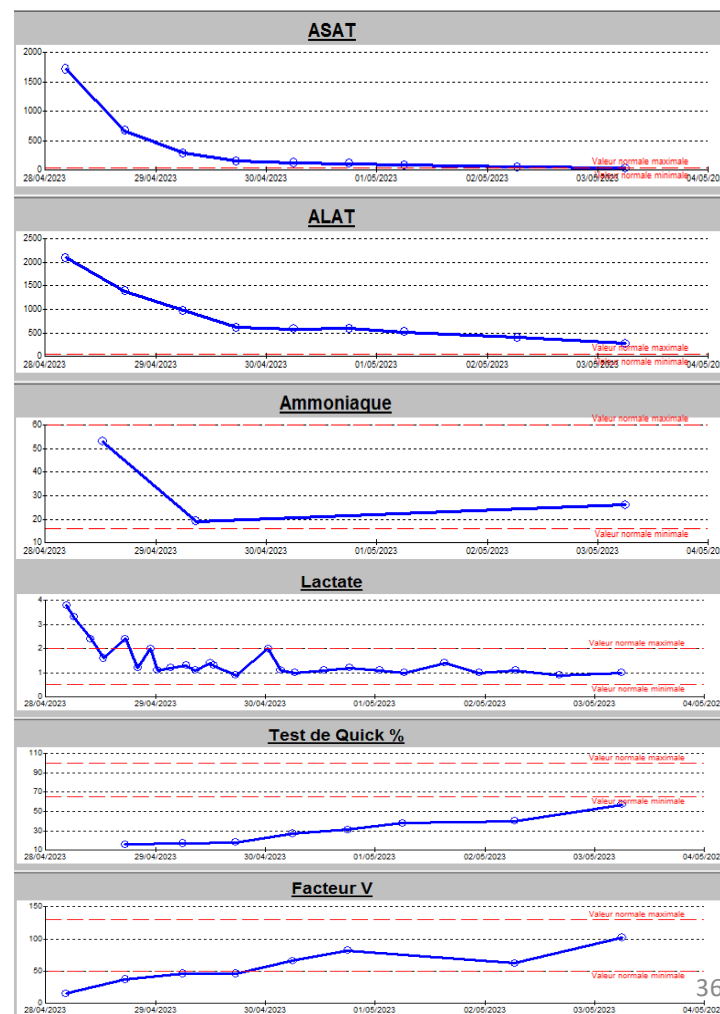
- **ASAT 4199 UI/l, ALAT 2991 UI/l**, gamma GT 158 UI/l, bilirubine totale 27 µmol/l. Lipase 39 UI/l.
- **TP < 10 %**, TCA 3,77, fibrinogène 0,67 g/l, **facteur V < 5 %**, **facteur II < 5 %**, **facteur VII < 5 %**, **facteur X 10 %**,
- **ammoniémie 179 µmol/l**, **acidose métabolique** (pH 7,06, pCO2 26 mmHg, bicarbonates 7 mmol/l,) **hyperlactémie 10,1 mmol/l**

# PEC en réanimation à Tours

- À jeun, NP 10mg/kg/min de sucre
- Benzoate de sodium DC puis entretien
- Début Vit B1, B2, B8, B12
- Vitamine K
- Aciclovir, Claforan, Amiklin, Vanco

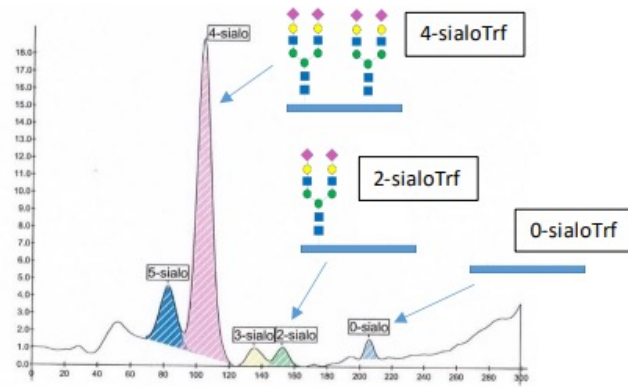
- Reprise lipides sur NP
- Reprise Diargal progressive

- **Thrombose sur KTc**
- Persistance anomalies de l'hémostase :
  - TP 83%, FV 184 %
  - **FXI 33%, AT3 28%**, Prot C 14%

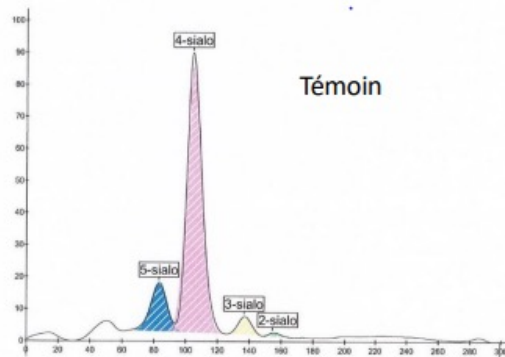
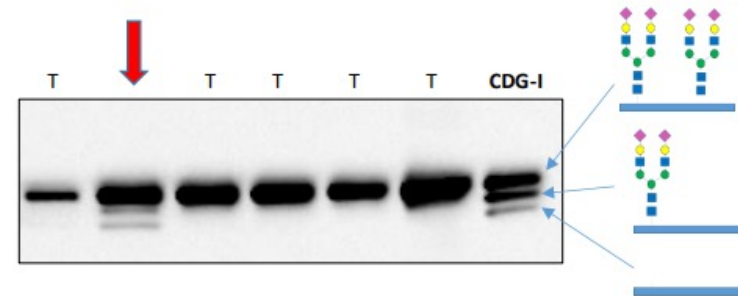


# Dépistage CDG

Electrophorèse capillaire de la Trf



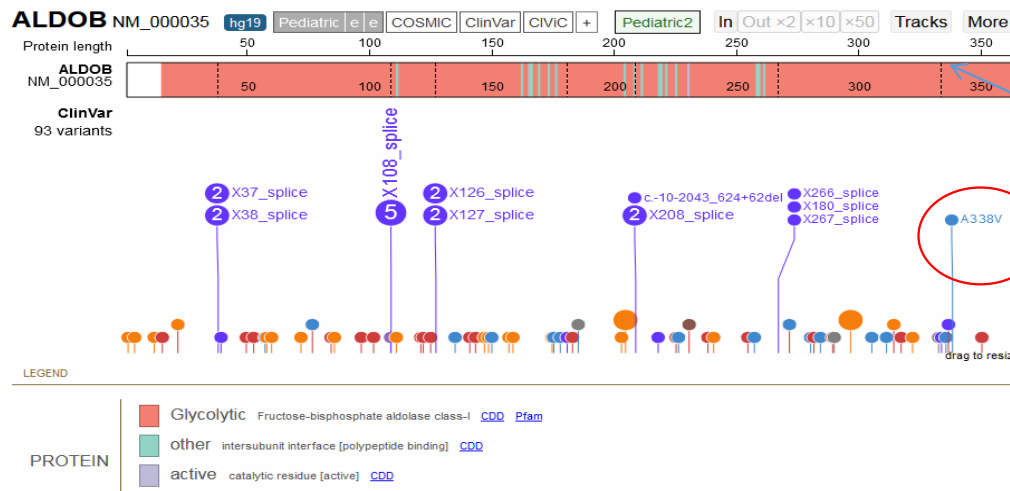
Western-blot de la Trf



MPI-CDG ?  
Traitement par le mannose ?

# Génétique

variant faux-sens homozygote dans l'exon 9/9 du gène **ALDOB** (Chr9)



**FRUCTOSÉMIE**

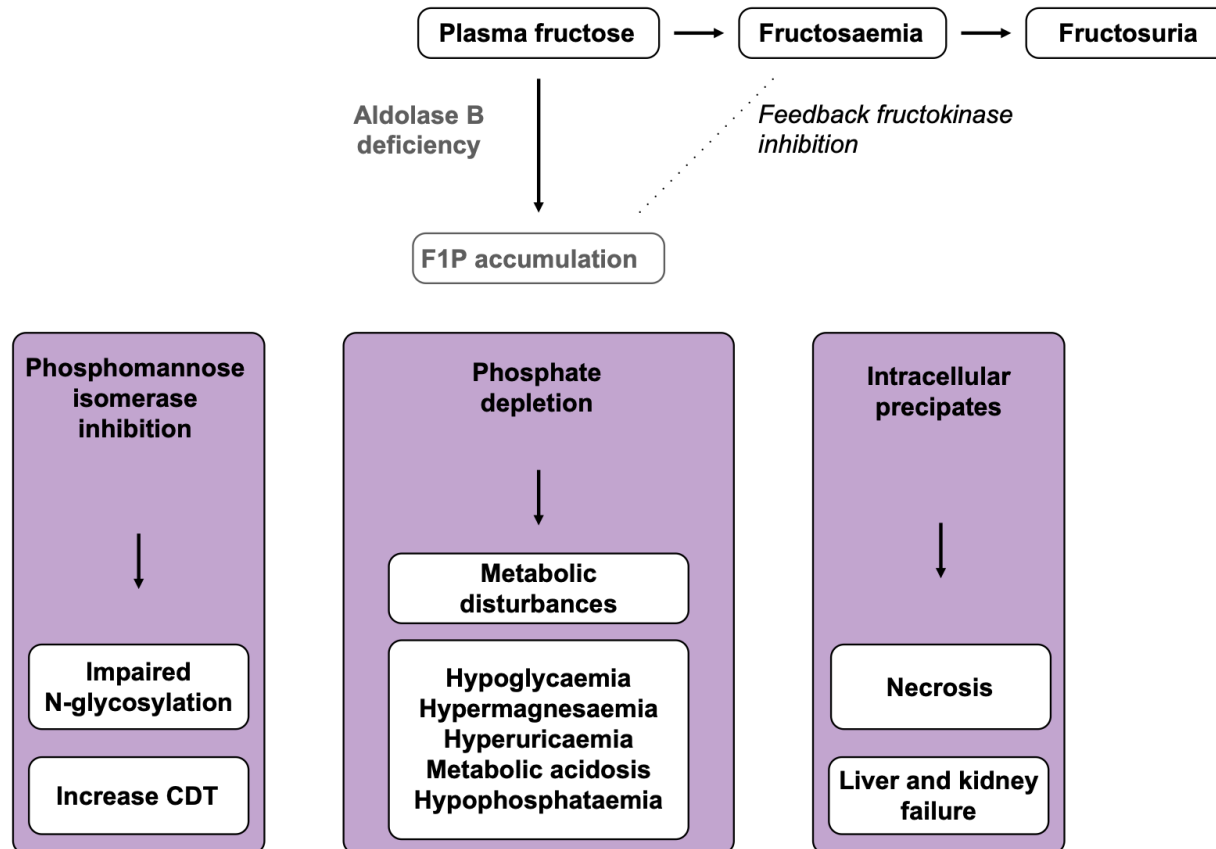
NM\_000035.4:c.1013C>T,  
NP\_000026.2:p.Ala338Val

- Rare dans GnomAD

Category	Expected SNVs	Observed SNVs	Constraint metrics
Synonymous	75.5	94	Z = -1.68 o/e = 1.25 (1.05 - 1.48) 0 — P1
Missense	198.6	255	Z = -1.42 o/e = 1.28 (1.16 - 1.42) 0 — P1
pLoF	17.7	12	pLI = 0 o/e = 0.68 (0.43 - 1.1) 0 — 1

SIFT	0,000 - Deleterious
Mutation Taster	1,000 - Disease causing
Polyphen2	1,000 - Probably damaging
DANN [0-1]	0,999 - Damaging
GERP [-12,3 à 6,17]	5,700
CADD >15-20	29,9 38

# Fructosémie



Bébé de 1 mois  
Alimentation non-diversifiée



Sucre blanc (saccharose) ajouté dans les biberons



# Un nouveau cas de TMEM165-CDG



Zoé Durin  
François Foulquier



Alexandre Raynor  
Elodie Lebredonchel



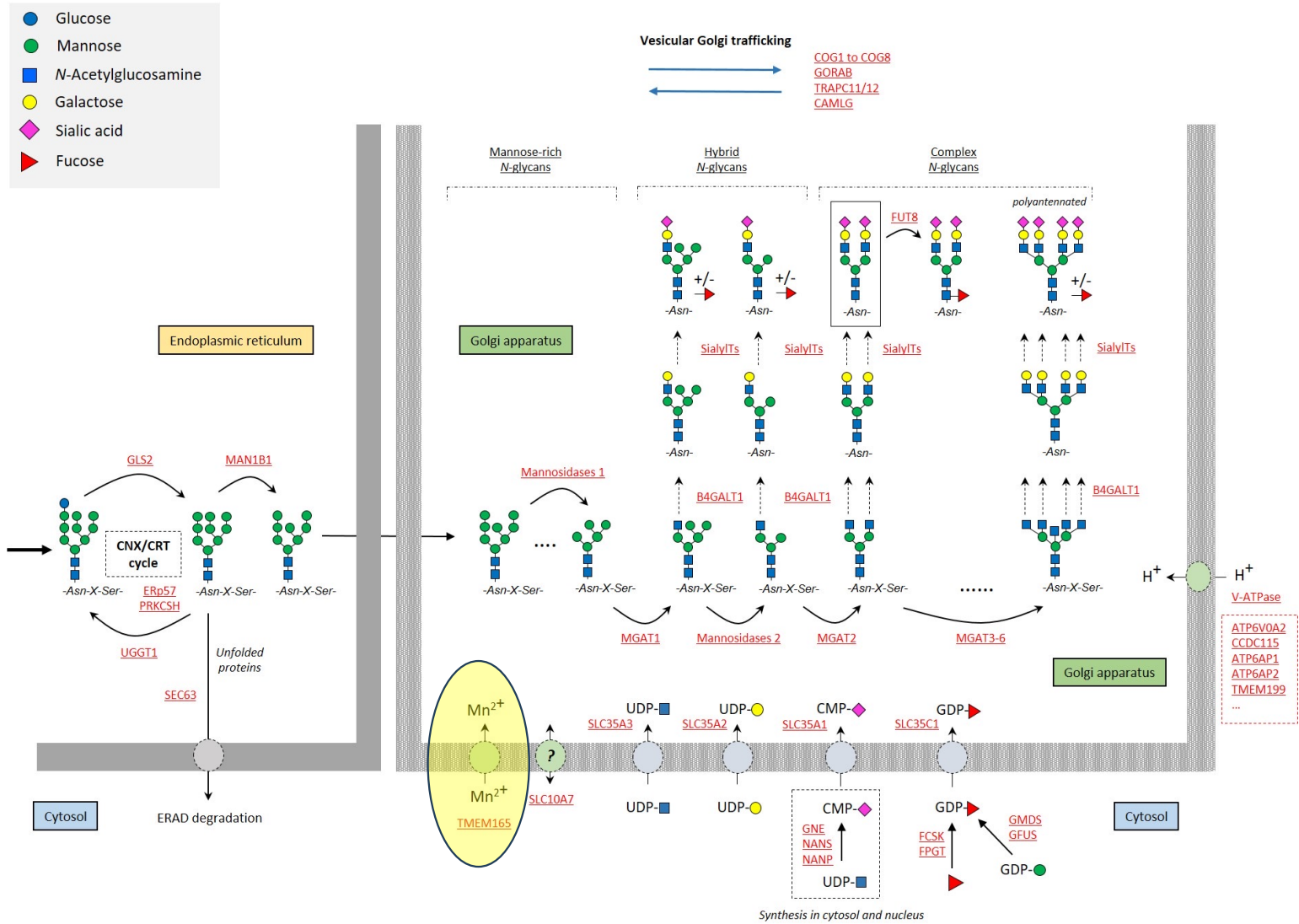
Pascale de Lonlay



François Fenaille  
Sophie Cholet



# N-glycosylation (2)



# A novel patient?

---

Currently, two year-old girl, child of first-cousins

---

Growth retardation, enteropathy with hypovolemic shock, hepatosplenomegaly

---

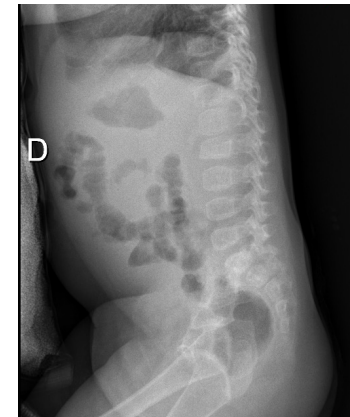
Abnormal liver and coagulation tests

---

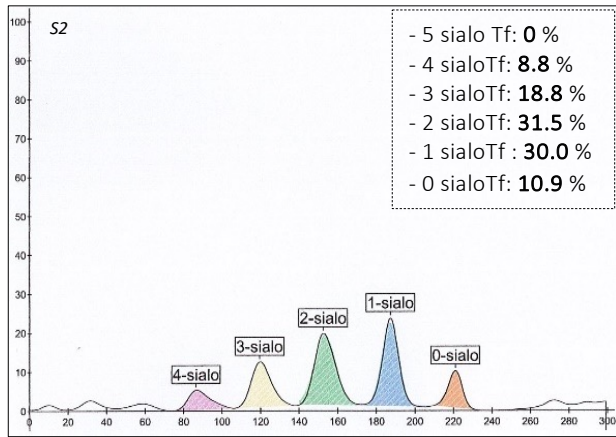
Bone hypomineralisation

---

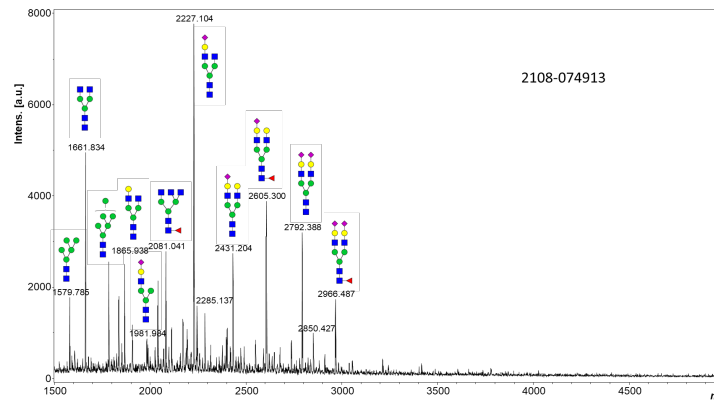
→ Evocative of CDG



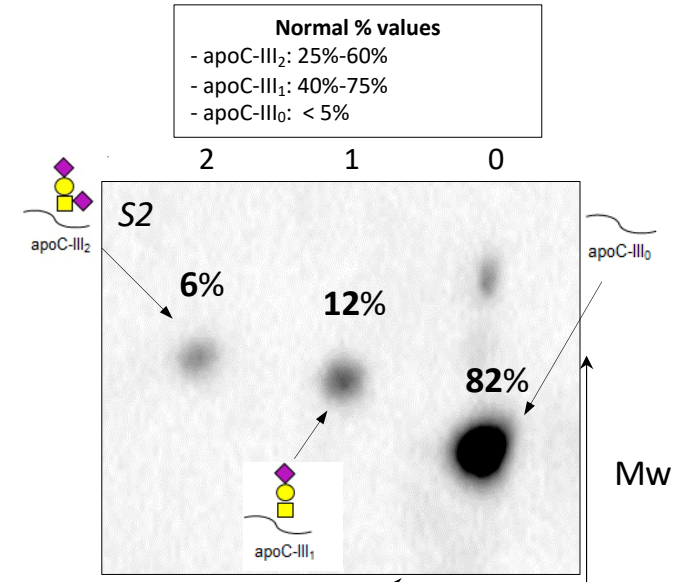
# Biochemical CDG screening



Type II transferrin profile



N-glycome  
type II CDG - hypogalactosylation

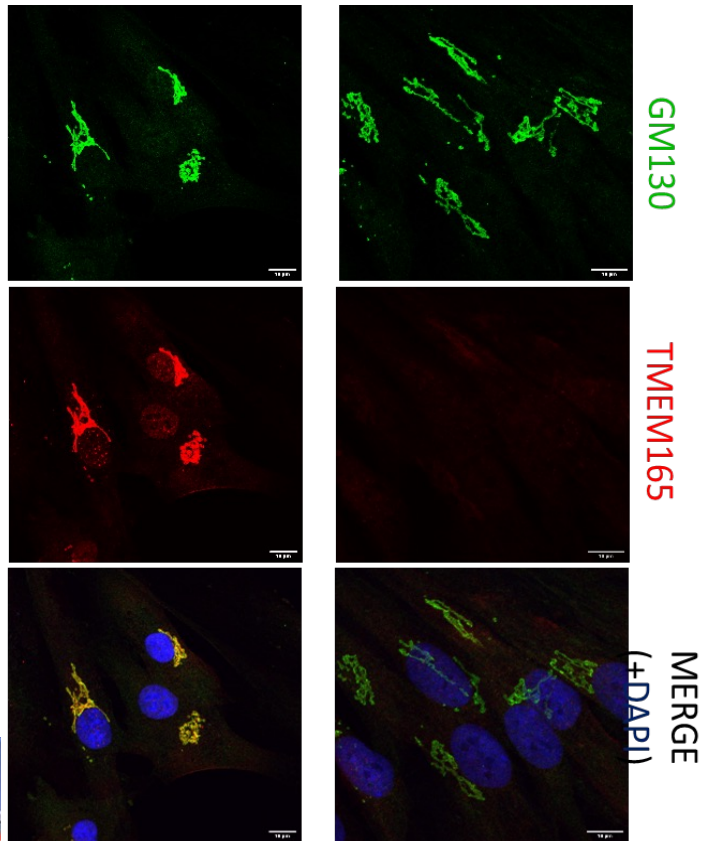


apoC-III<sub>0</sub> 2-DE profile  
Golgi homeostasis defect?

TMEM165-CDG?



# TMEM165 expression in patient cells



- No expression of TMEM165 in patient cells
- → Sequencing of *TMEM165*?

Control fibroblasts

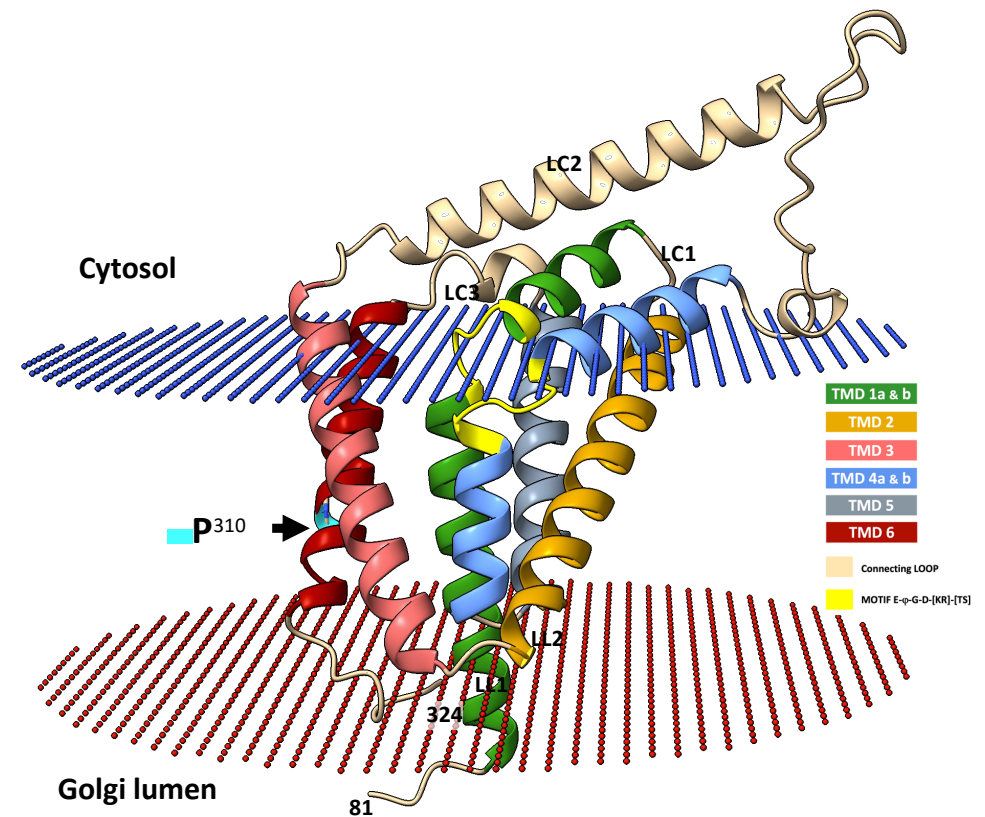
Patient fibroblasts

EUROGLYCAN Network meeting, Prague, 19-21 June 2023

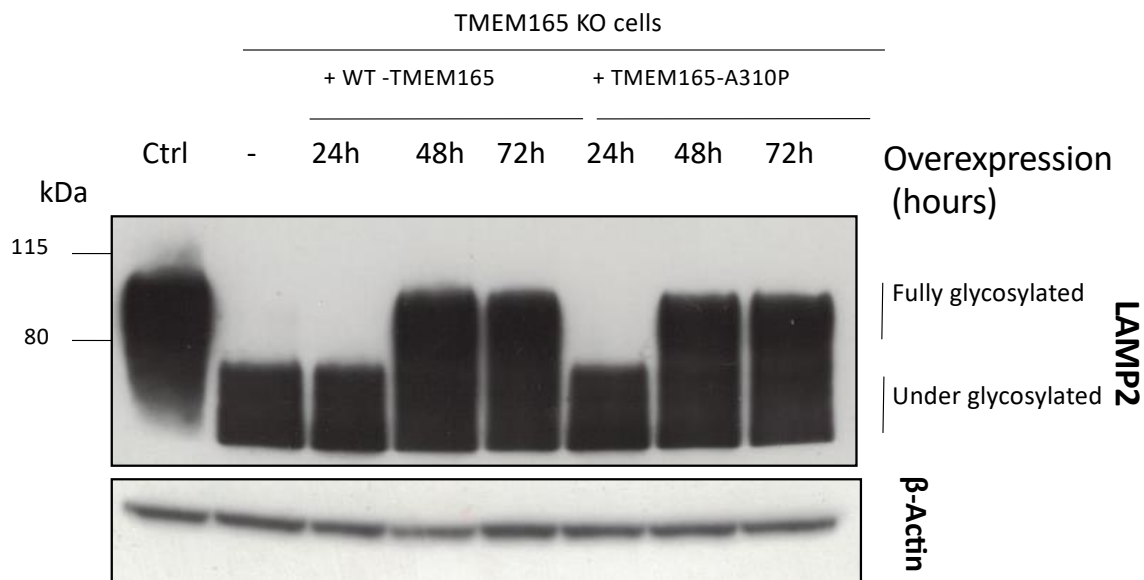


# A novel mutation

- A mutation in TMEM165 was found
  - A310P
  - Never described before
- Is this mutation pathogenic?

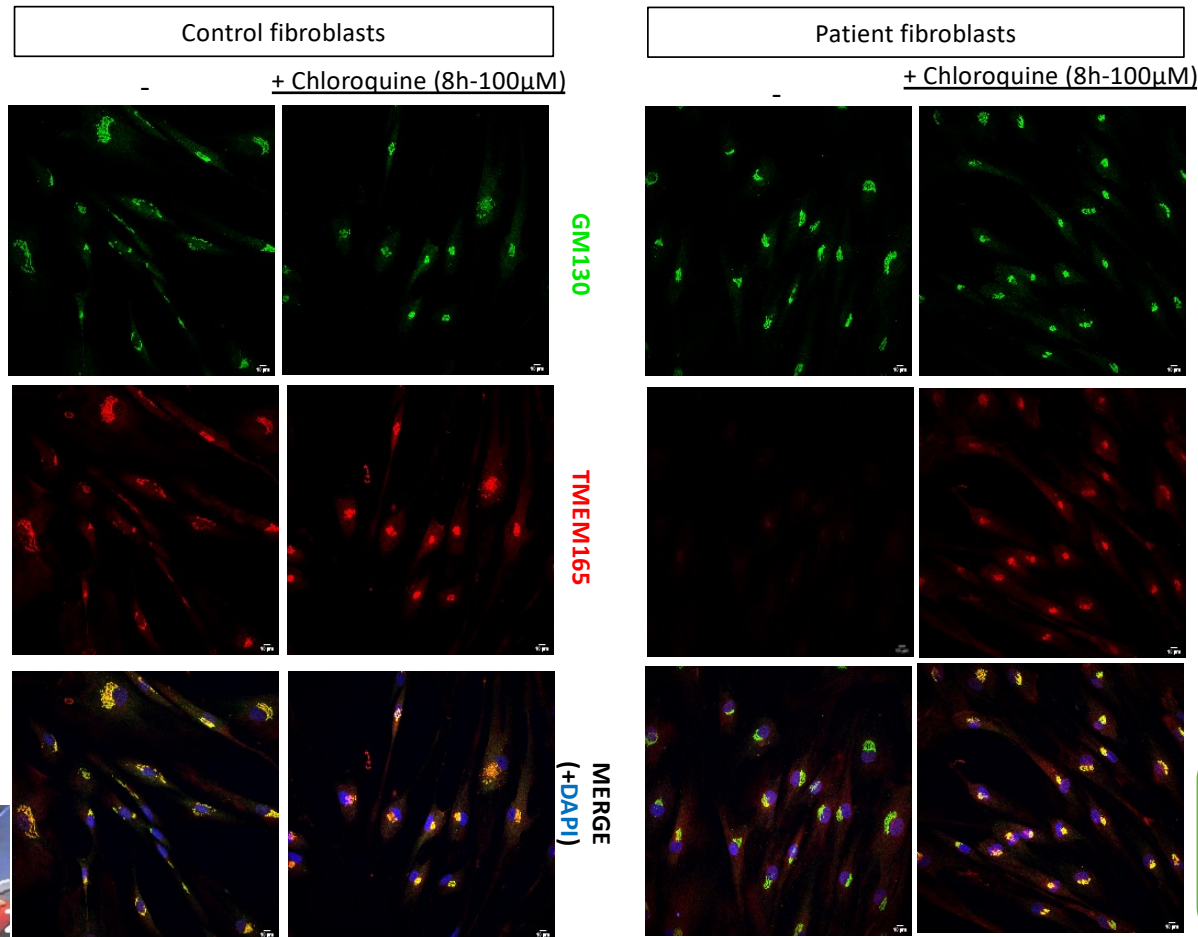


# A310P TMEM165 is functional



- Rescue of LAMP2 migration profile with WT-TMEM165
- Rescue of LAMP2 migration profile with A310P-TMEM165
- → The mutant is functional !
- Where does the patient phenotype comes from?

# A310P TMEM165 stability is affected



- TMEM165 normal turn-over is *via* lysosomes
- Chloroquine inhibits lysosomes acidification

→ TMEM165 is back in patient's cells

The pathogenicity would come from a increased degradation, not a loss of function





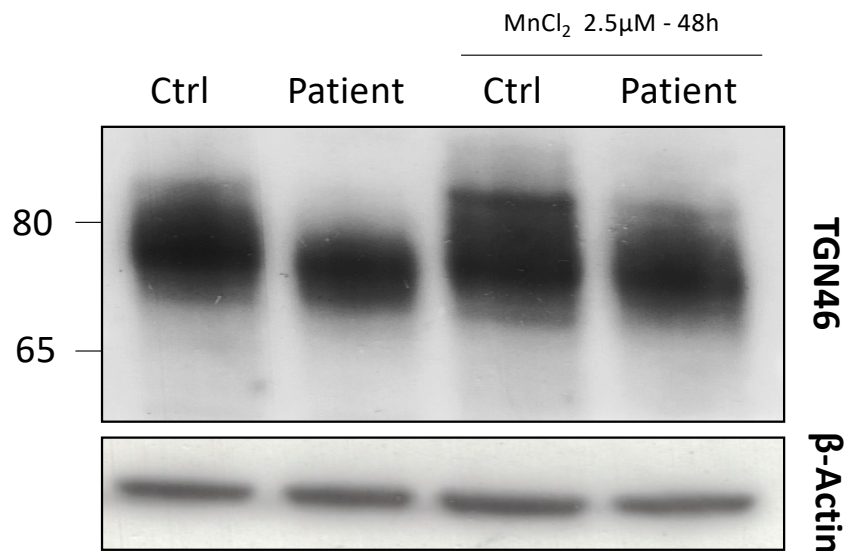
# Patient treatment?

		D-Galactose	Manganese
Glycosylation defects in TMEM165-CDG:	N-glycosylation	✓	✓
	O-Glycosylation	✗	✓
	Glycosaminoglycanes	✗	✓
	Glycolipids	✗	✓

**BEST TREATMENT OPTION**

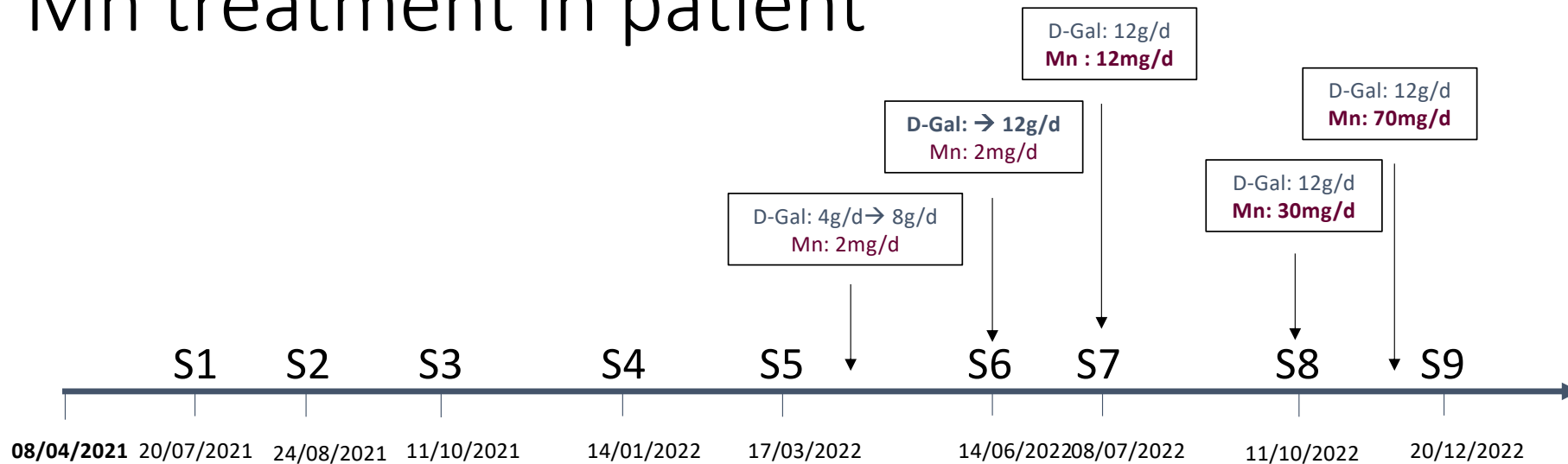


# Mn treatment



- Rescue of TGN46 migration profile (O-glycosylation) with MnCl<sub>2</sub>
- Rescue of TGN46 with chloroquine but higher cell mortality
- (no rescue with Galactose alone)

# Mn treatment in patient

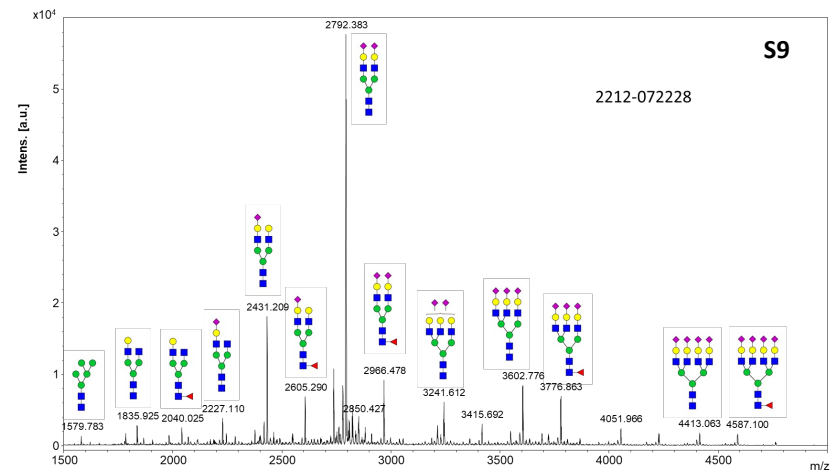
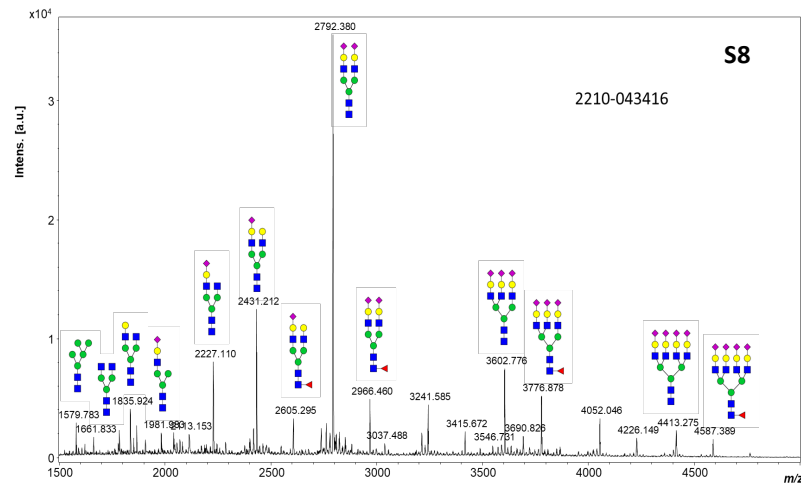
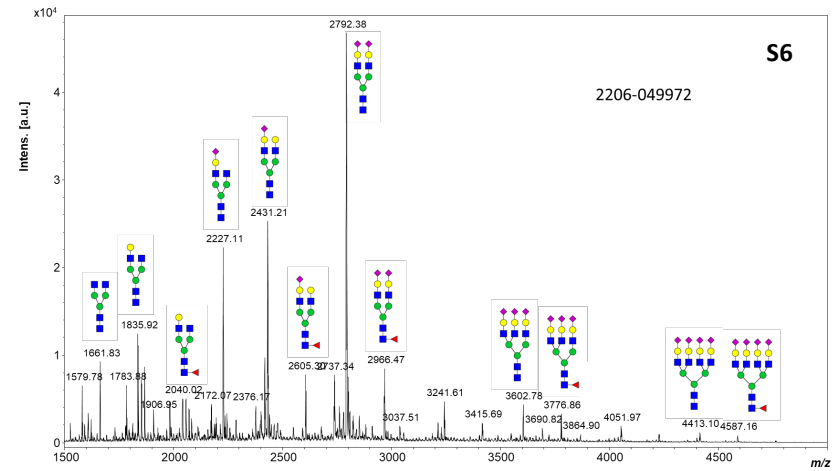
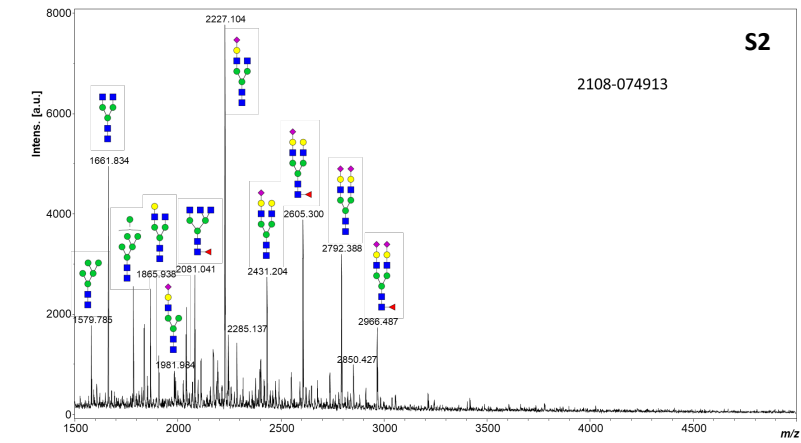


- What is the right dosage for Mn?
- In SLC39A8-CDG, between 65 and 195mg/day

→ Slow increase of the dose

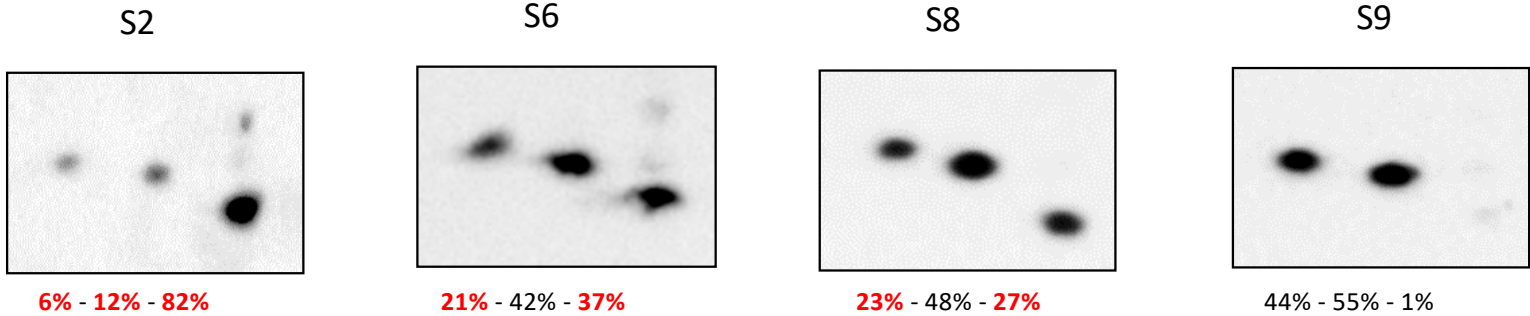


# N-glycome profile normalization

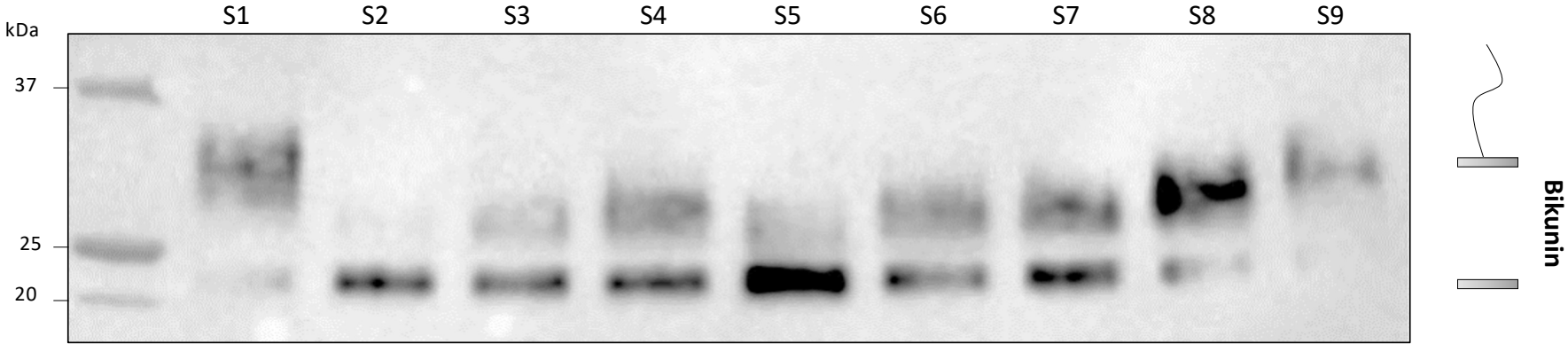


# apoC-III and bikunin profiles normalization

apoC-III : mucin type O-glycosylation

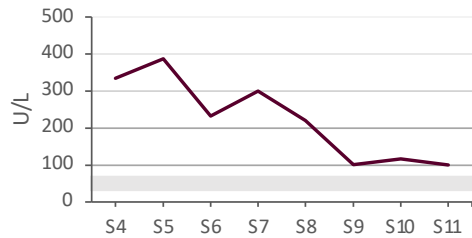


Bikunin : glycosaminoglycan

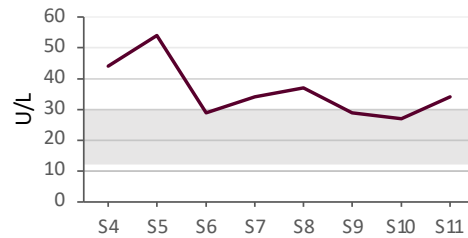


# Biochemical markers

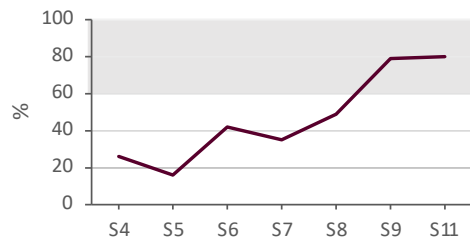
AST



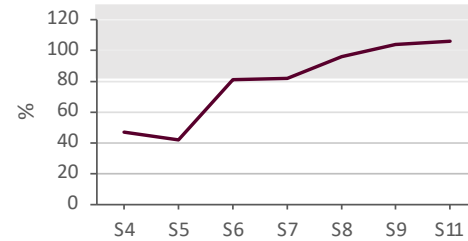
ALT



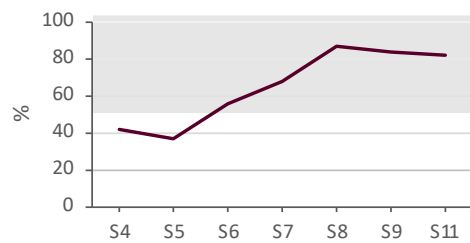
XI Factor



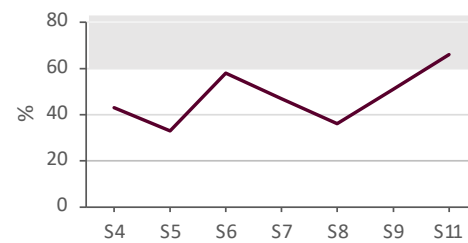
ATIII



C Protein

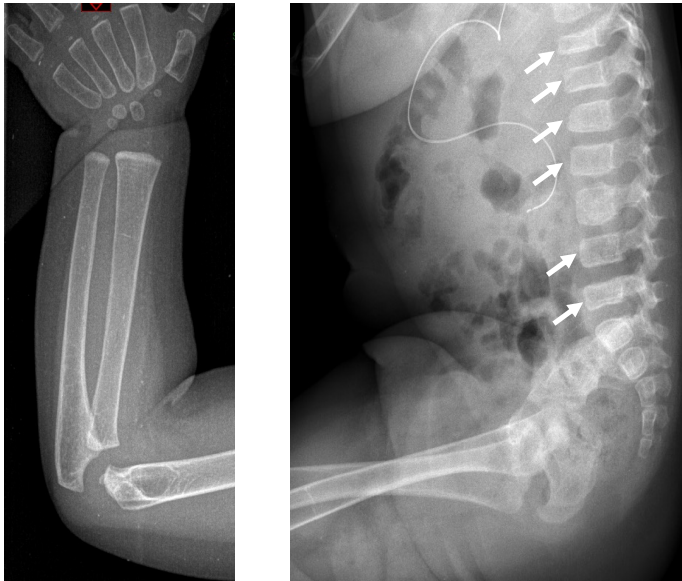


S Protein



- Clear improvements in liver and coagulation labs

# Clinical phenotype after 1 year of treatment



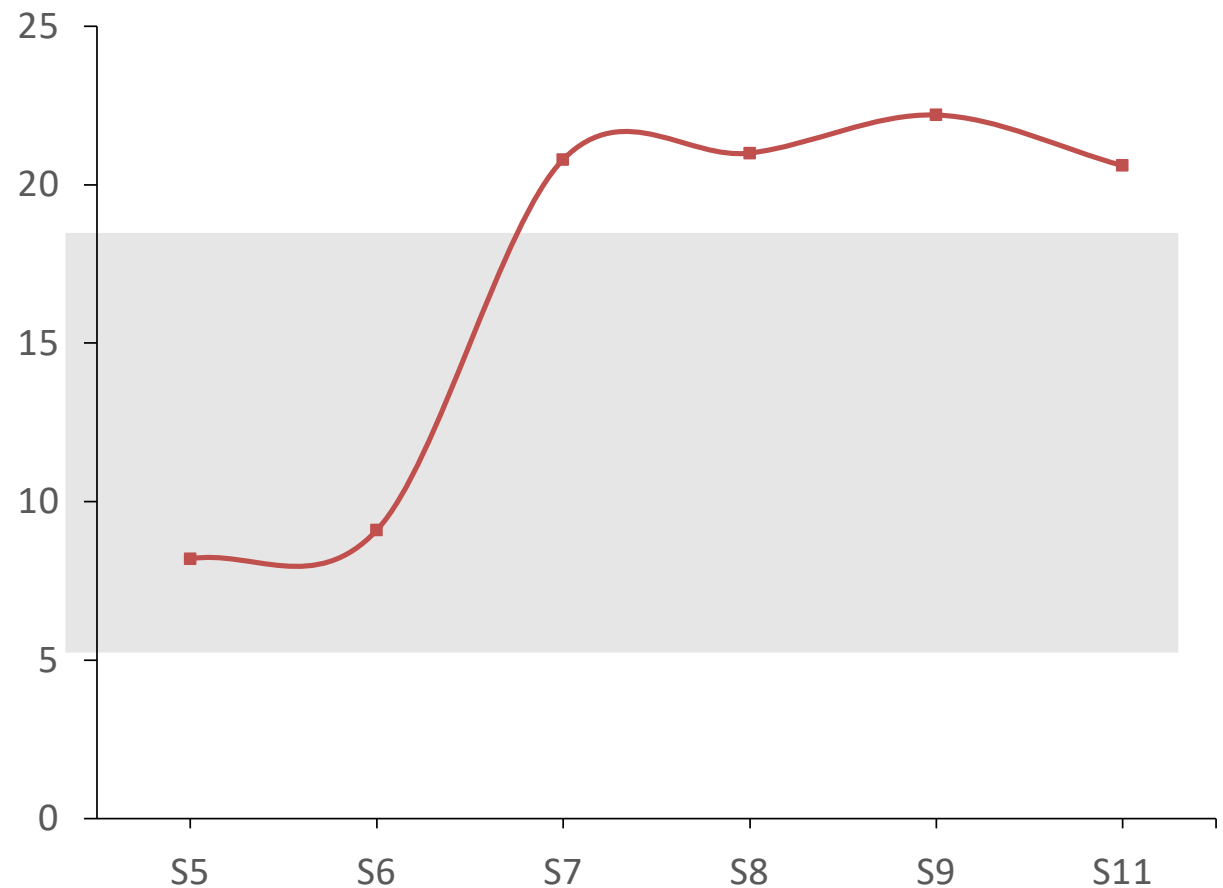
- Still present a developmental delay
- Bone hypomineralisation

→ She progresses, but at her own pace, without aggravation

# Mn<sup>2+</sup> accumulation?

- Mn<sup>2+</sup> toxicity: risk of neurological disorder (Parkinson-like)
- However, no clear-cut biomarker of Mn<sup>2+</sup> toxicity...
- Clinical and imaging follow-up required (Brain MRI)

Blood manganese concentration (nmol/L)

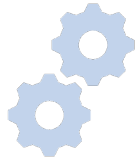






## Novel TMEM165-CDG patient

- Early diagnosis



## Novel mutation A310P

- Functional but unstable



## First Mn treatment to our knowledge

- Full rescue of initial glycosylation defect



## Follow-up needed

- Mn Toxicity?
- Impact on the global phenotype?

## Manganèse et autres CDG ?

- Importance majeure du manganèse pour la glycosylation (co-facteur de très nombreuses enzymes de la glycosylation)
- TMEM165 : antiport  $Mn^{2+}/H^+$  → si défaut d'acidification du Golgi → défaut d'entrée du  $Mn^{2+}$  → défaut de glycosylation
- Collecte de fibroblastes en cours (ATP6AP2-CDG ; TMEM199-CDG...)

**Inserm**

La science pour la santé  
From science to health

# INSERM 1193

## Pr Christian POÛS

université  
PARIS-SACLAY

FACULTÉ DE  
PHARMACIE

### Professeurs

Pr. **POÛS** Christian 3843  
Pr. **BAUDIN** Bruno 3841  
Pr. **BILLIALD** Philippe 3206

### Maîtres de Conférences

Dr. **BAILLET** Anita 3837  
Dr. **BENOIT** Béatrice 3838  
Dr. **BRUNEEL** Arnaud 3842  
Dr. **CHAREF** Najet 3840  
Dr. **JACQUIN** Elise 3838  
Dr. **LORIN** Séverine 3839  
Dr. **PERDIZ** Daniel 3839  
Dr. **PILON** Antoine 3842

### Etudiants en thèse

**OVARAS-LOUNIS** Samra 3825

### Personnels ITRF

**CANTALOUBE** Isabelle 3837  
**DJAMBAE** Laila 3836  
**MDAHOMA** Hadidja 3836  
**RATIER** Ameetha 3840



- Alexis Couasnard  
- Paola Bellanda

Merci !



**Nathalie Seta  
Thierry Dupré  
Élodie Lebretonchel  
Sandrine Vuillaumier  
Alexandre Raynor  
Anne Barnier**



**Pascale de Lonlay  
Muriel Girard  
Valérie Cormier-Daire  
Delphine Borgel  
Annie Harroche**



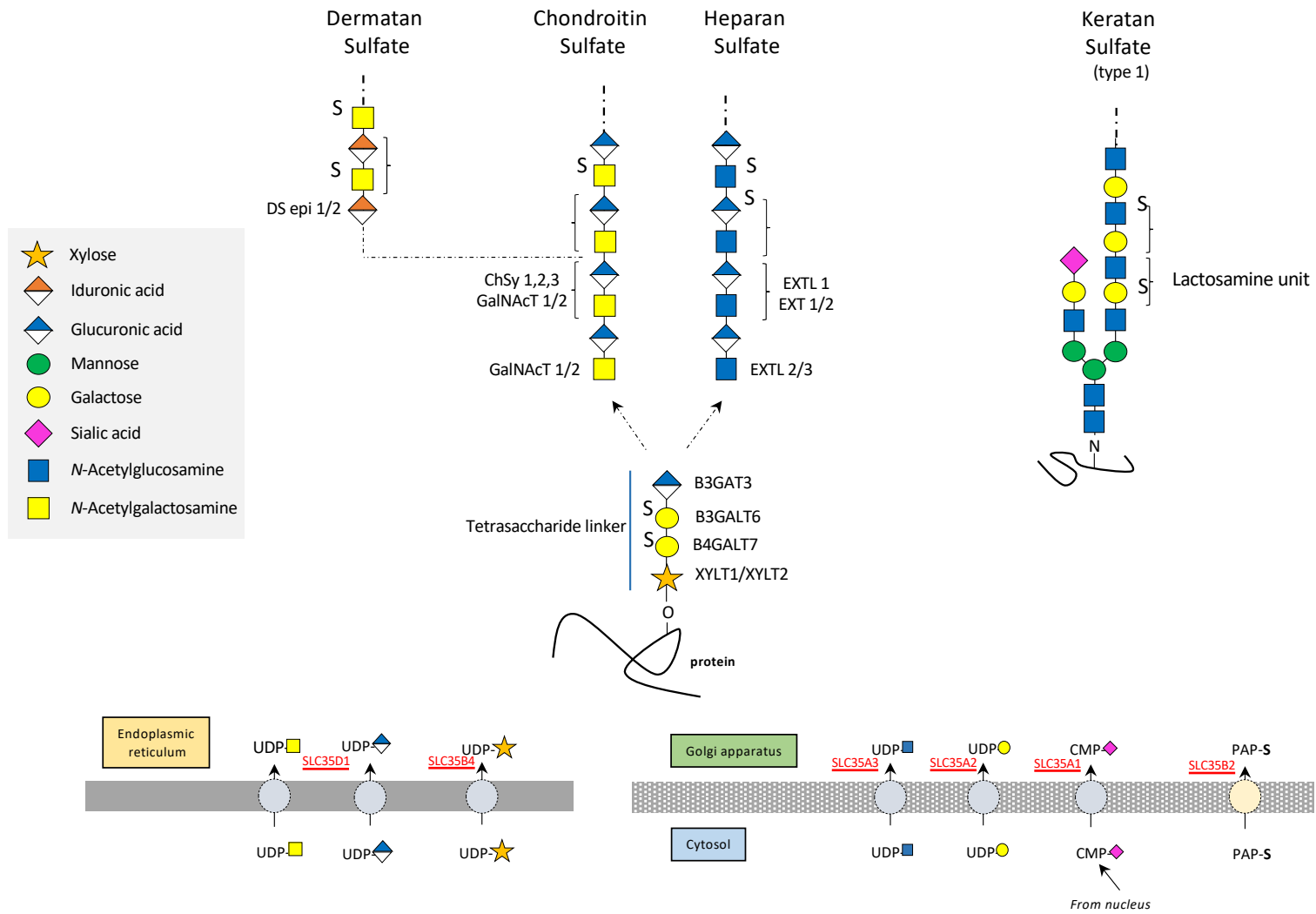
**Sophie Cholet  
François Fenaille**



**Zoé Durin  
François Foulquier**

[www.cdg-bichat.com](http://www.cdg-bichat.com)





- Glucose
- Mannose
- *N*-Acetylglucosamine
- Galactose
- ◆ Sialic acid
- ▶ Fucose

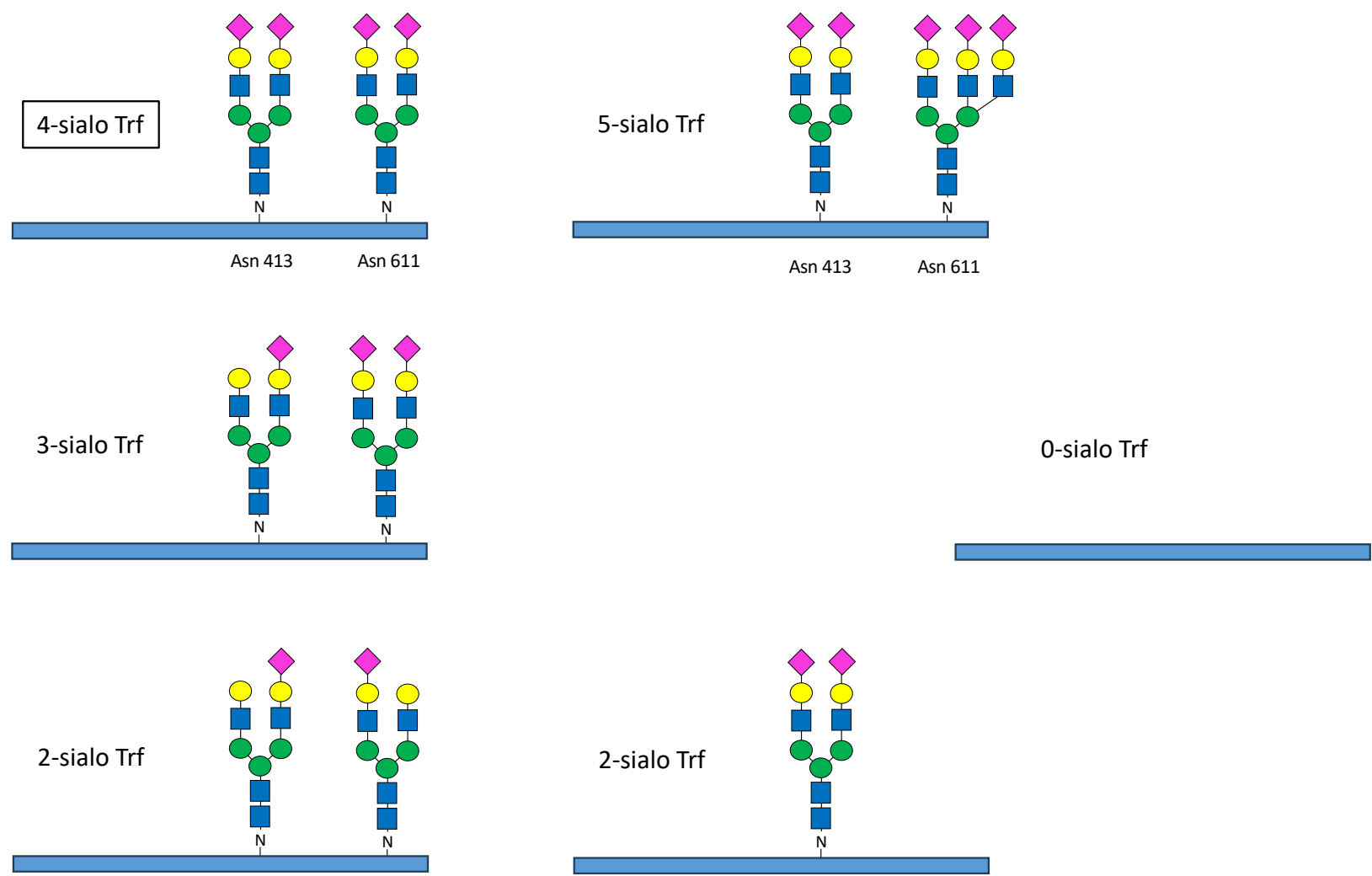


Figure 5