

Bases biochimiques des maladies héréditaires du métabolisme

Pr. Soumeya BEKRI

Laboratoire de Biochimie Métabolique - CHU de Rouen

Maladies héréditaires du métabolisme

Archibald Garrod 1902

Un gène



Une maladie

Même variant



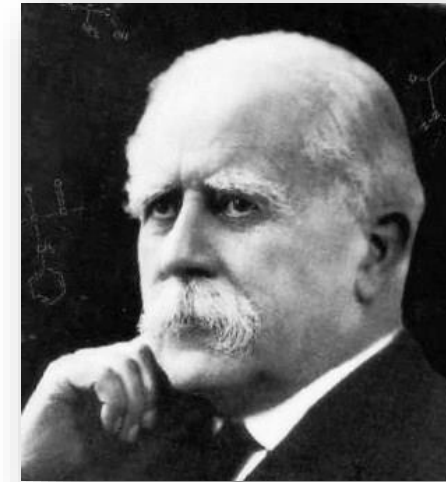
Différents
phénotypes

Approches globales et intégratives



Omiques

Tebani *et al.* IJMS 2016



INBORN ERRORS OF METABOLISM

The Croonian Lectures delivered before
the Royal College of Physicians
of London, in June, 1908

By
ARCHIBALD E. GARROD
D.M., M.A. OXON.

*Fellow of the Royal College of Physicians,
Assistant Physician to, and Lecturer on Chemical Pathology
at St. Bartholomew's Hospital,
Physician to the Hospital for Sick Children,
Great Ormond Street*

*"ἐν νῦν τοῖς φυσικοῖς θεωρεῖται τὴν ἀναπνοήν."
Aristotélès, *Περὶ ζῴων γενέσεως*, I. 5.*

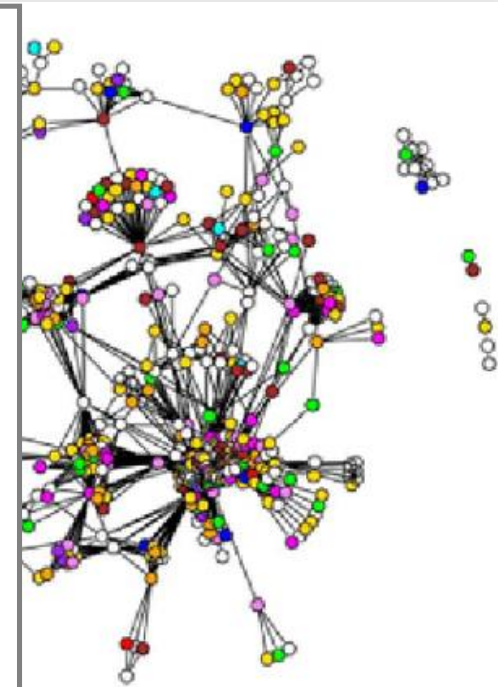
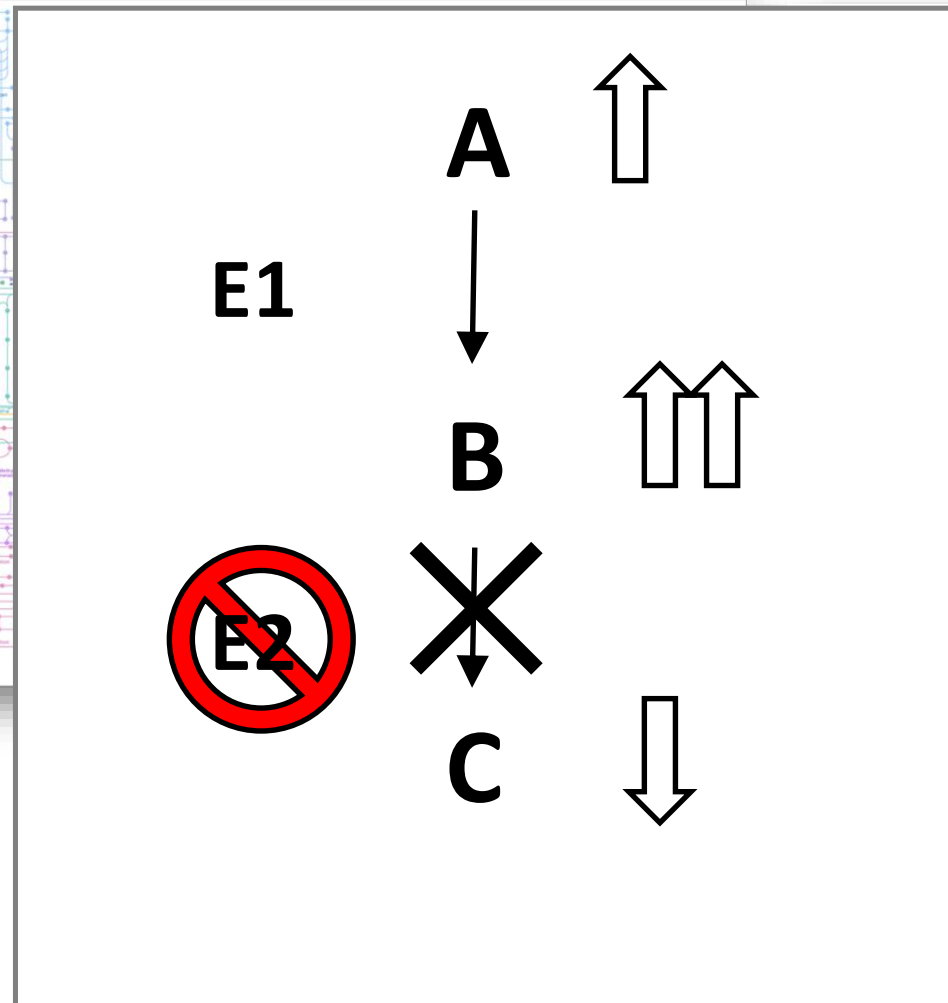
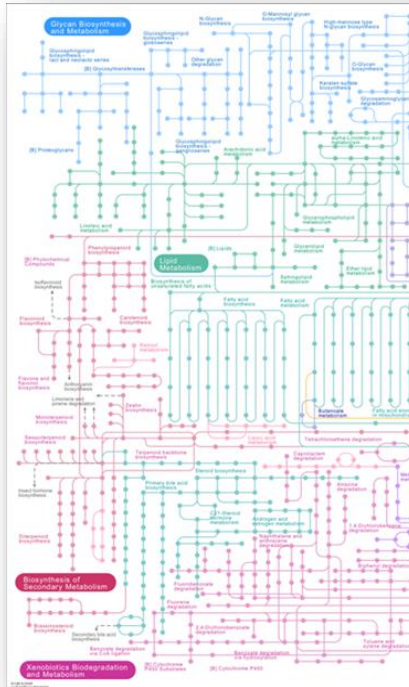
LONDON
HENRY FROWDE HODDER & STOUGHTON
OXFORD UNIVERSITY PRESS 20, WARWICK SQUARE, E.C.
1909

Garrod AE. The incidence of alkaptonuria: a study in chemical individuality. *Lancet* 1902;ii:1616-1620.

Métabolisme : Réseau Dynamique

Linéaire et statique

Dynamique et sans échelle





Métabolisme : Réseau Dynamique

Reconstruction 3D du réseau métabolique (protéines, métabolites)

3 288 gènes(17% des gènes
13 543 réactions métaboliques impliquant
4 140 métabolites
12 890 protéines

Intégration des

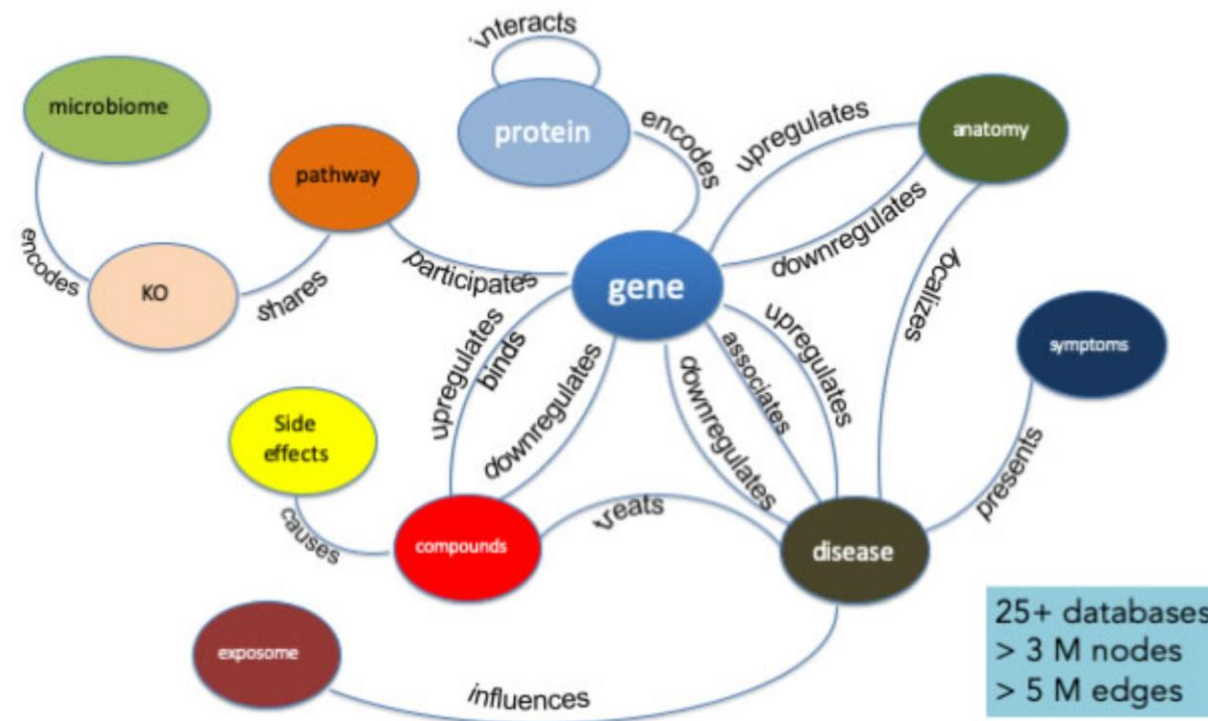
Associations pharmacogénomiques
Données phénotypiques à grande échelle
Informations structurales des protéines et des métabolites.
Analyses fonctionnelles

Identification de modules impliqués dans différentes pathologies

<http://vmh.life>

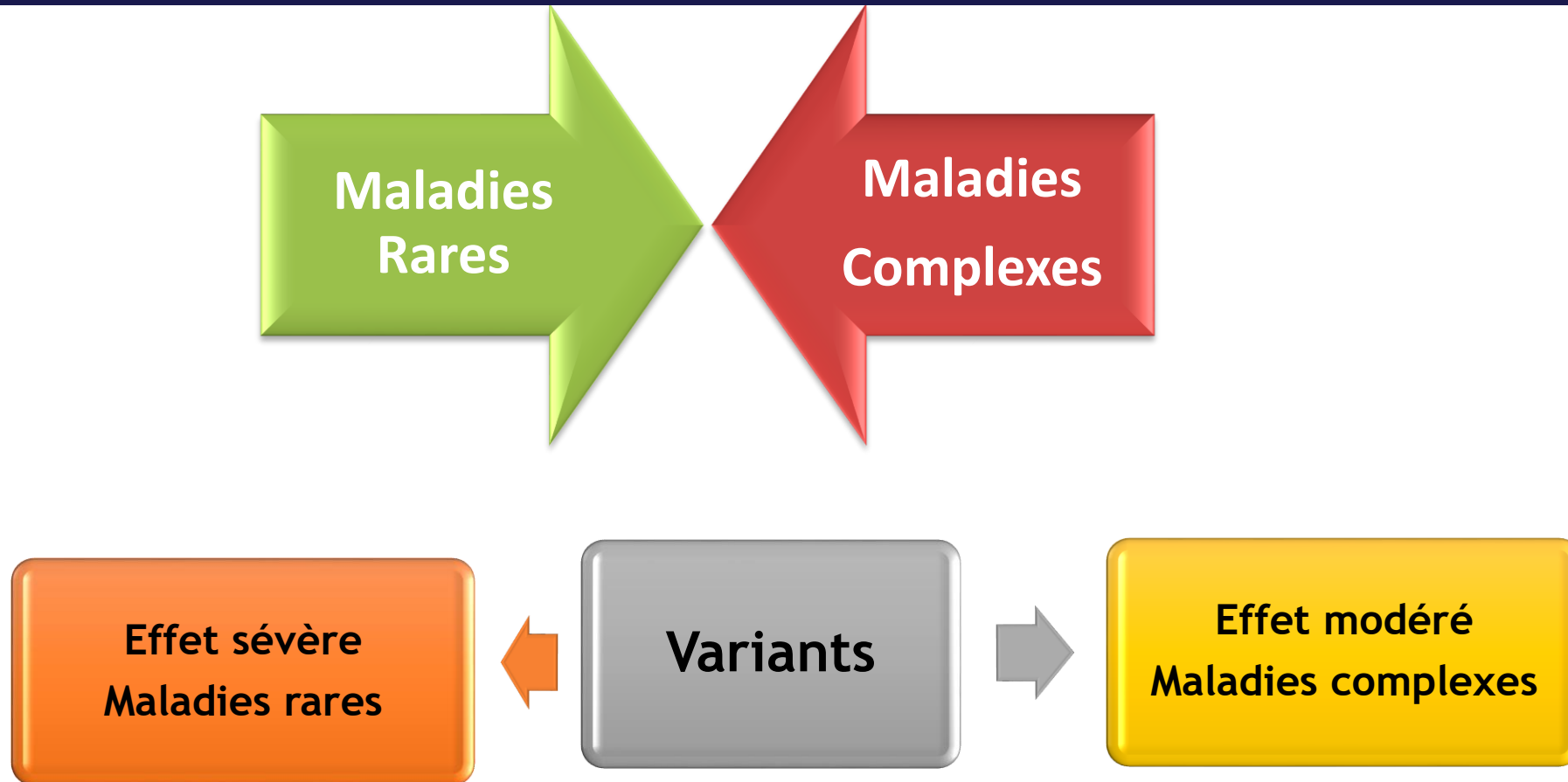
Métabolisme : Réseau Dynamique

A Database of Databases



<https://precisionmedicine.ucsf.edu/building-ultimate-nexus-knowledge-biomedical-data>

Maladies Monogénique/Complexes



110 million de patients: genome-wide association study → Variants identifiés dans les maladies complexes sont majoritairement dans les gènes des maladies mendéliennes.

Blair, Cell 2013

Maladies héréditaires du métabolisme

Dogme " un gène, une enzyme, une fonction catalytique " simpliste

Les gènes codent souvent plusieurs protéines différentes

→ épissage alternatif + Modification co et post-traductionnelles

Localisation subcellulaire

Régulation

Fonction

Exemple beta galactosidase/EBP

Enzymes multifonctionnelles

1 ou plusieurs sites catalytiques → plusieurs activités catalytiques.

Fatty acid synthase 7 activités catalytiques différentes

Catalyse la synthèse d'un précurseur (acétyl-CoA, malonyl-CoA, NADPH)

Ce précurseur est fixé de façon covalente à l'enzyme

Catalyse l'élongation

Plusieurs rôles

Parfois activités complémentaires

Parfois même voie métabolique mais des réactions non consécutives

Parfois rôles de régulation

Maladies héréditaires du métabolisme

Enzymes multispécifiques

un seul type de site catalytique - différents substrats physiologiques

Hydrolases

Enzymes du catabolisme des xénobiotiques (Cyt P450)

Glycosyltransférases

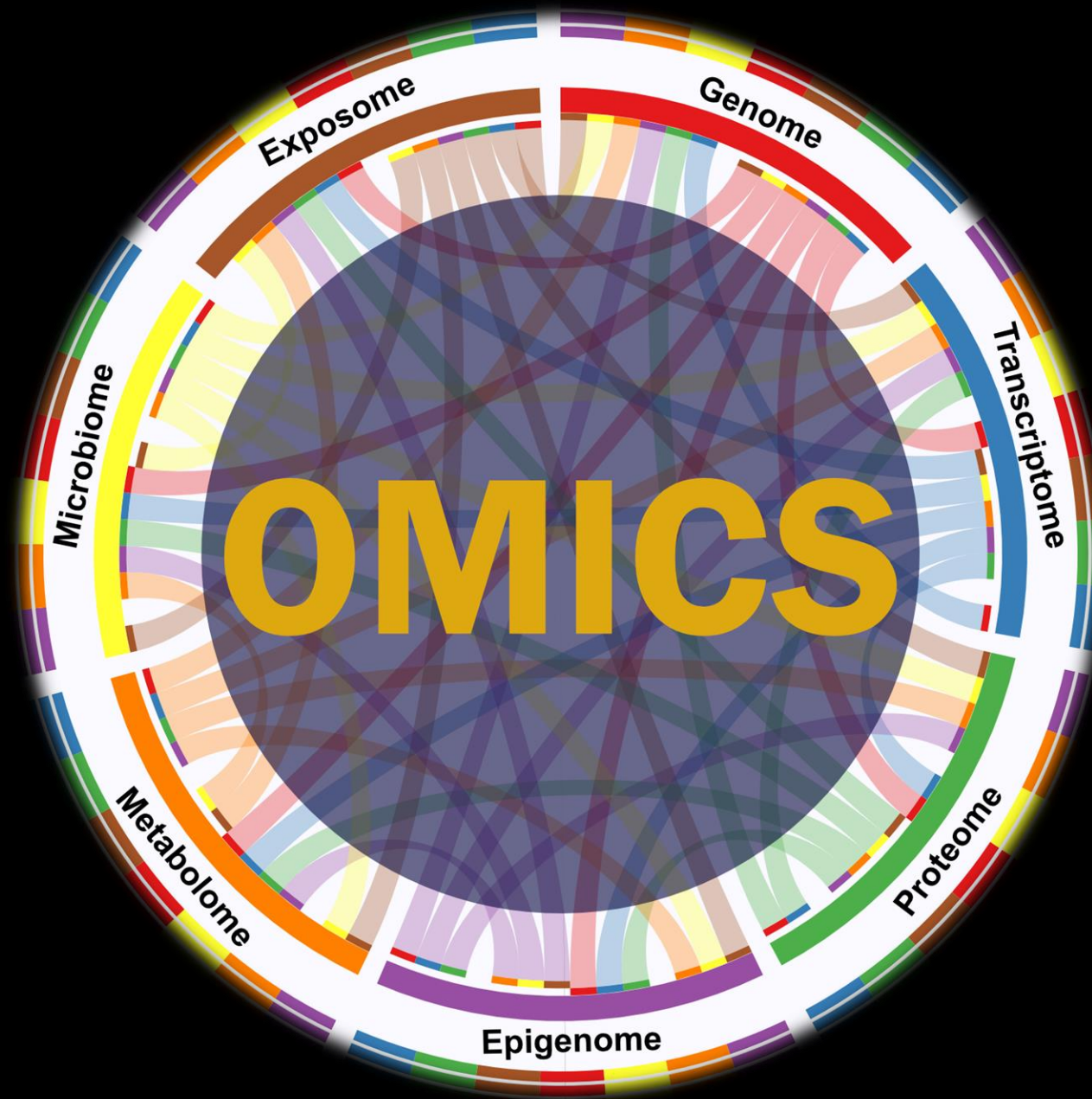
Enzymes avec des fonctions non catalytiques

Phosphoglucose isomérase + Facteur neurotrophique

→ le déficit de ces fonctions peut participer au phénotype.



Exploration biologique des maladies héréditaires du métabolisme



Tebani, A. Bekri, S. 2019

Maladies Lysosomales de Surchage

Que peut-il arriver ?

Génomique



ADN

Que semble-t-il arriver ?

Transcriptomique



ARN

Qu'est-ce qui fait que ça arrive ?

Protéomique



Protéines

Qu'est-qui arrive ?

Métabolomique



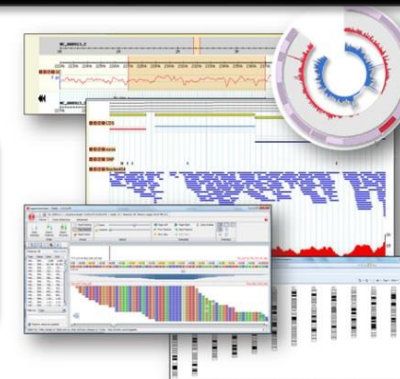
Métabolites

Sciences Omiques

Les technologies omiques permettent d'explorer les molécules de base qui constituent un système biologique

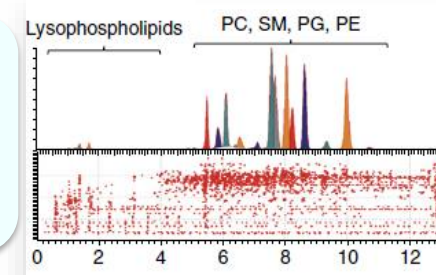
Séquençage Nouvelle Génération

- ADN-ARN
- Séquençage
- Stratification des patients



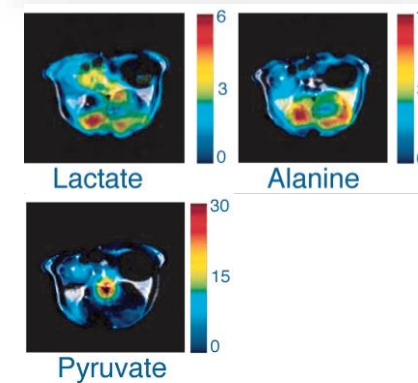
Spectrométrie de Masse

- Protéines, métabolites
- Caractérisation fonctionnelle
- Distribution spatiale
- Stratification des patients



RMN

- Protéines, métabolites
- Abondance des molécules
- Interactions dynamiques
- Distribution spatiale
- Stratification des patients



Analyses de nouvelle génération

Analyses multiplex en haut débit



Données massives



Analyse de données et modélisation

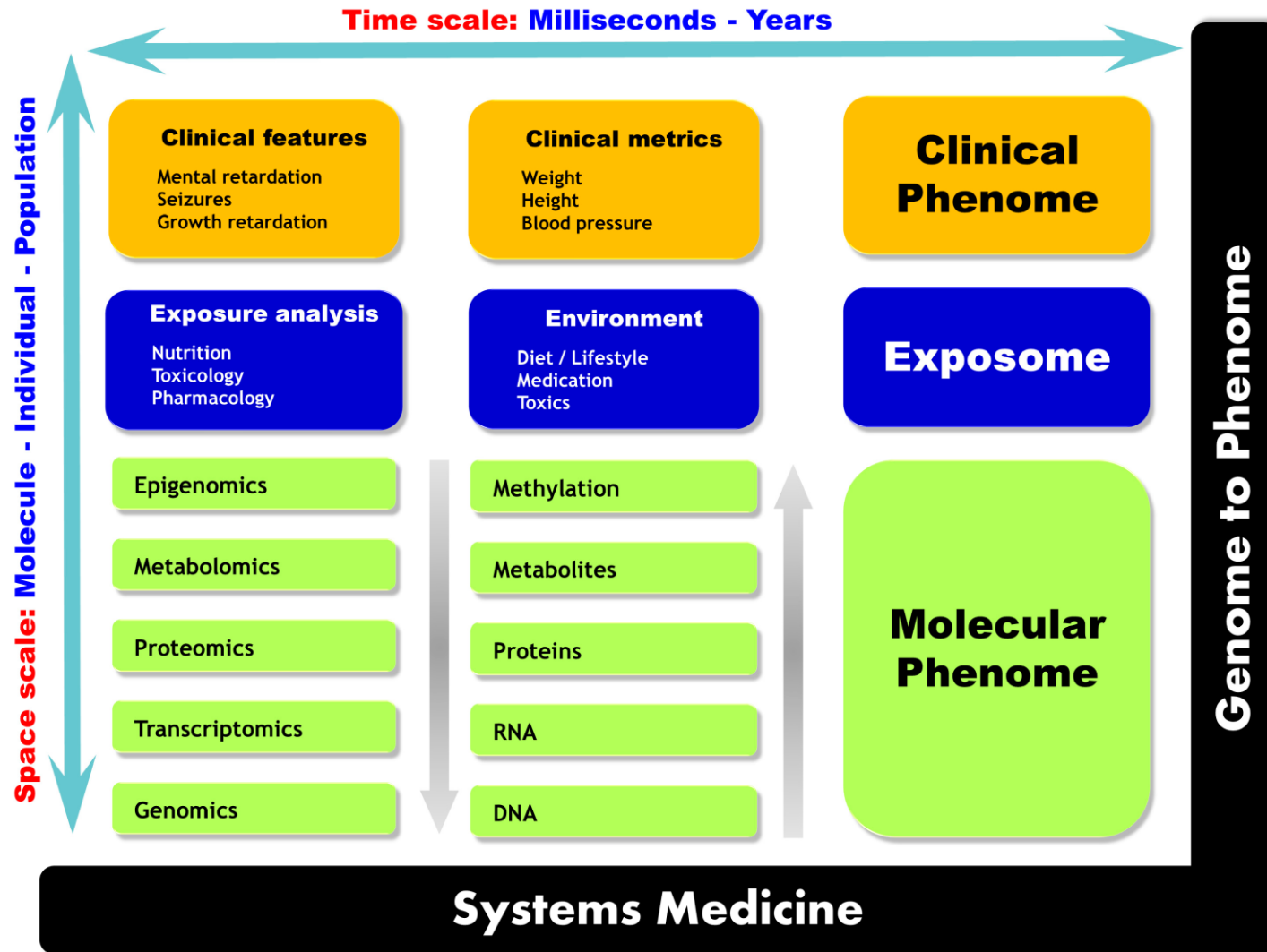


Intégration des données / Systèmes experts

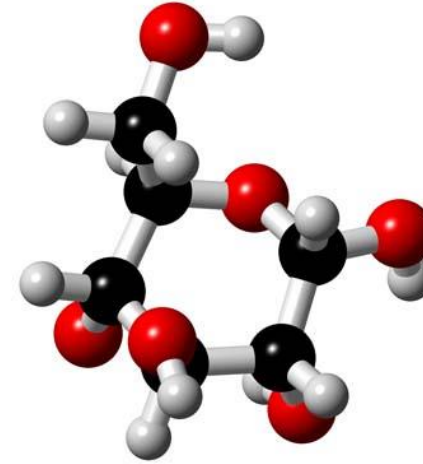
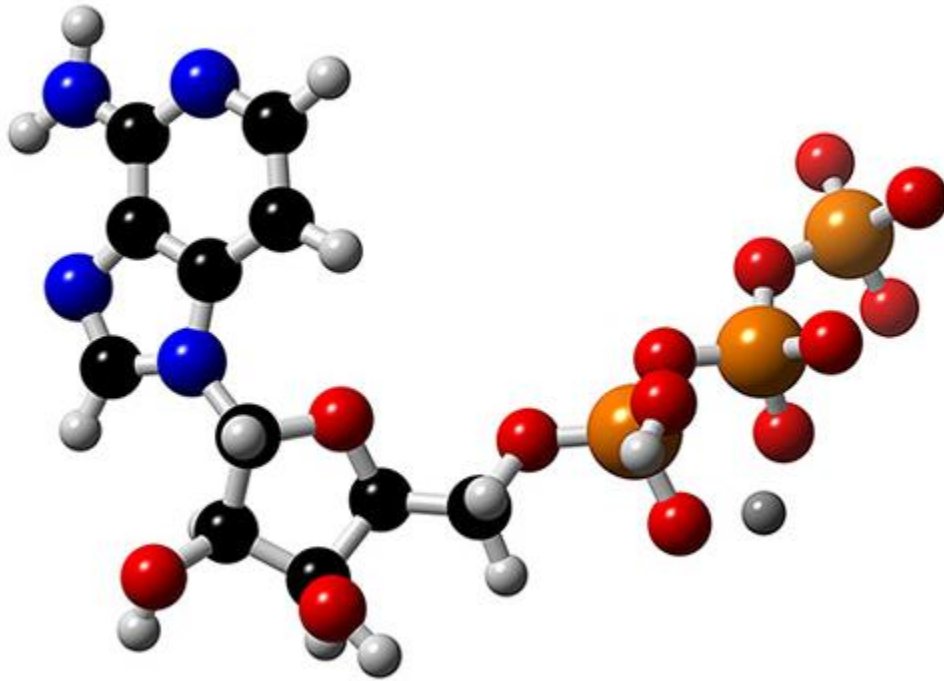
Signatures moléculaires



Du Génome au Phénomène



Tebani, A. et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2016



Métabolites

Metabolomics

Metabolites:

Small molecules (<1500 Da)

Ultimate support of the biological information

Metabolome:

refers to the complete set of metabolites in a biological sample

MetaboLomics / MetaboNomics:

➔ Metabolic Profiling / Metabotyping

“the quantitative measurement of the metabolic *responses* of *complex systems* to a pathophysiological *stimulus* or genetic modification”.

(Nicholson, J. K., et al 1999, Xenobiotica, 29, 1181-89.)

Metabolomics



Small molecules matter

>90% of common clinical tests measure small molecules

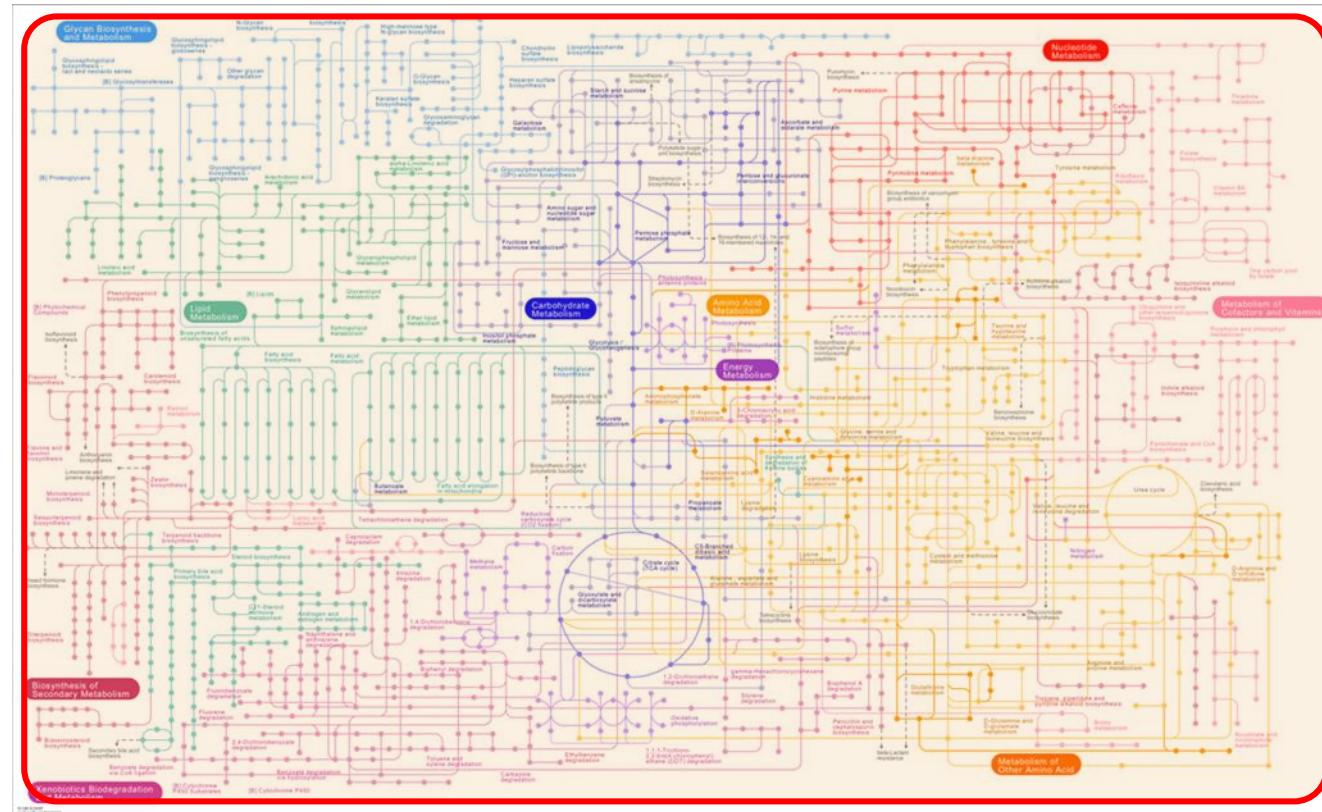
90% of all drugs are small molecules

80% of the most common diseases involve small molecules

[Goldsmith, P., et al., J Surg Res, 2010. 160\(1\), 122-32](#)

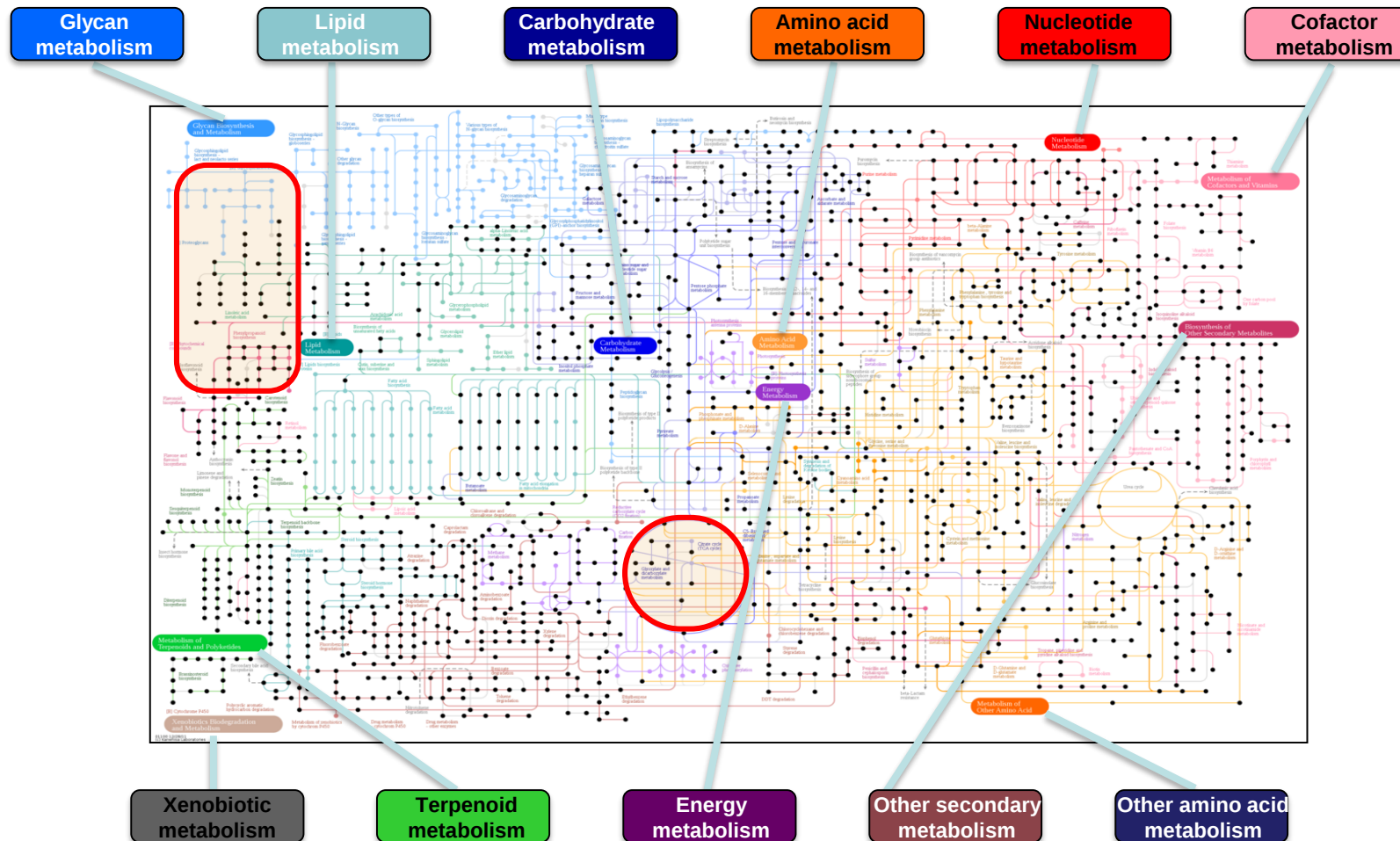
Metabolomics

Global approach



Metabolomics

Targeted approach

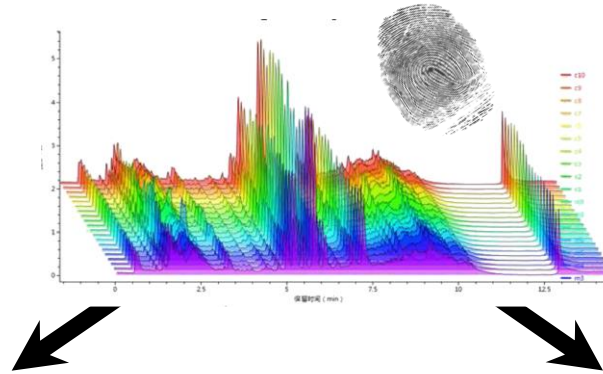
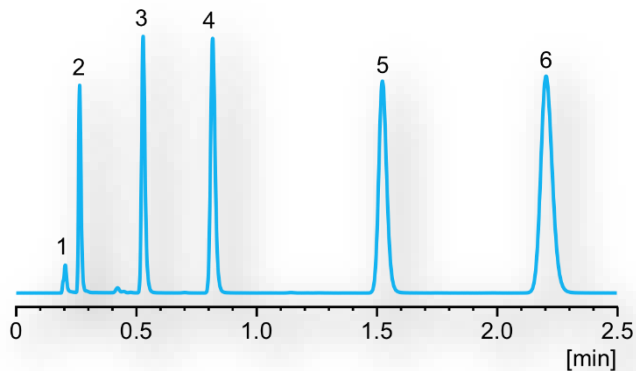


Metabolomics



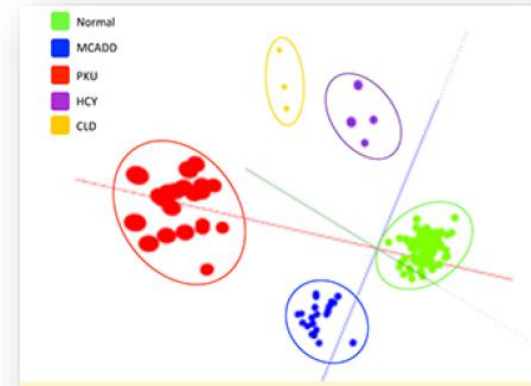
Quantitative approaches

Targeted
(Set of Biomarkers)



Chemometric approaches

Global
(Fingerprints)



Analytical Strategies

Mass spectrometry

Tissues, biofluids and extracts

Mass to charge ratio (m/z)

Sensitivity
Higher metabolome coverage

NMR spectroscopy

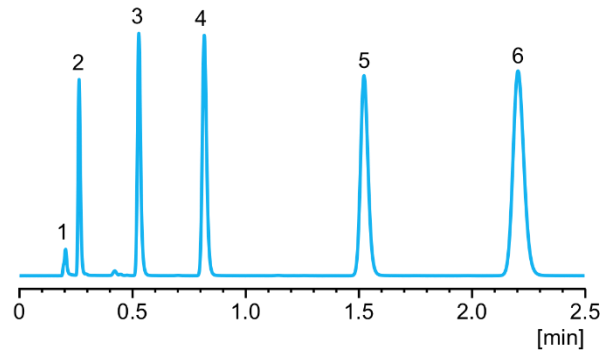
Tissues, biofluids and extracts

Interaction of spin active nuclei
(^1H , ^{13}C , ^{31}P) with
electromagnetic fields gives
molecular information

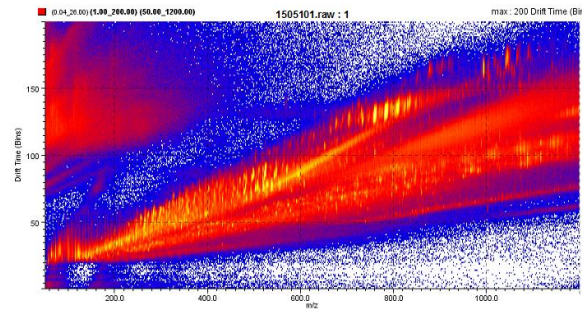
Non-destructive
Cross-instrument robustness

Analytical Strategies

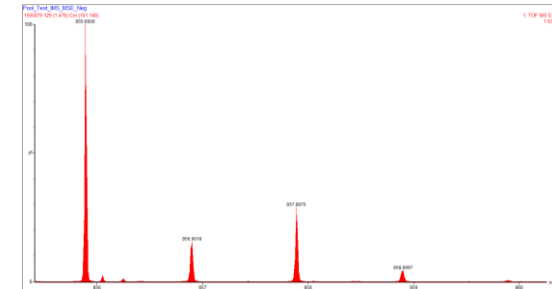
Multidimensional analytical method



minutes (TR)



100 ms (CCS)



100 μ s (m/z)

Metabolomics

Metabolomics & Biomarkers

Biomarkers are critical

**Presymptomatic
Follow-up**

Two ways for the identification of biomarkers

**Metabolic Data mining: metabolomics analyses of
control vs disease samples**

In-silico approach

**Alteration of specific metabolic pathway, which in turn
affects one or more metabolic fluxes**

Pagliarini & Di Bernardo Journal of computational Biology 2013

**Haut débit, sensibilité, spécificité,
Faible volume d'échantillon
Identification et quantification**

Matrices : sérum, plasma, urines, LCR, DBS

**Lyse des GAG → Disaccharides
Digestion enzymatique
Lyse chimique (Méthanololyse -
Butanololyse)**

➤ [Mol Genet Metab.](#) 2023 Sep-Oct;140(1-2):107632. doi: 10.1016/j.ymgme.2023.107632.
Epub 2023 Jun 24.

Endogenous, non-reducing end glycosaminoglycan biomarkers are superior to internal disaccharide glycosaminoglycan biomarkers for newborn screening of mucopolysaccharidoses and GM1 gangliosidosis

Zackary M Herbst¹, Xinying Hong², Leslie Urdaneta³, Terri Klein⁴, Christine Waggoner⁵,
Hsuan-Chieh Liao⁶, Francyne Kubaski⁷, Roberto Giugliani⁸, Maria Fuller⁹, Michael H Gelb¹⁰

Affiliations + expand

PMID: 37407323 PMCID: [PMC10748792](#) DOI: [10.1016/j.ymgme.2023.107632](#)

Table 1 Oligosaccharides in control and MPS urine

	Control	MPS I	MPS II	MPS IIIA	MPS IIIB	MPS IIIC	MPS IIID	MPS IVA	MPS IVB	MPS VI	MPS VII
<i>n</i>	630	19	13	16	12	3	1	13	2	12	2
HNAC (1S)	10 (0.2-49)	12 (4-36)	12 (8-28)	14 (9-27)	11 (5-16)	15 (12-29)	123	81 (39-261)	7 (5-9)	180 (71-1234)	3 (2.5-3.5)
HNAC (2S)	0.6 (0.02-2.3)	0.8 (0.3-1.9)	0.7 (0.3-1.7)	0.8 (0.5-1.3)	0.8 (0.4-1.0)	0.8 (0.5-1.9)	1.0	0.8 (0.4-1.8)	0.4 (0.3-0.6)	13 (7.3-107)	0.6 (0.4-0.8)
HNAC-UA (1S)	n.d. (n.d.-0.12)	n.d. (n.d.-0.06)	n.d. (n.d.-0.07)	0.03 (n.d.-0.07)	n.d.(n.d.-0.08)	n.d.(n.d.-0.04)	0.04	0.56 (0.24-5.55)	n.d. (N/A)	1.45 (0.35-7.35)	0.06 (0.06-0.07)
UA-HNAC (1S) early RT	n.d. (n.d.-0.04)	1.5 (0.4-2.9)	n.d.(N/A)	n.d. (n.d.-0.06)	n.d. (N/A)	n.d. (n.d.-0.01)	n.d.	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d. (n.d.-0.08)	n.d. (N/A)
UA-HNAC (1S) late RT	n.d. (n.d.-0.04)	0.16 (0.03-0.48)	0.19 (0.13-0.31)	n.d. (n.d.-0.05)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	0.02	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d. (n.d.-0.02)	n.d. (N/A)
HN-UA (1S)	n.d. (n.d.-0.04)	0.01 (n.d.-0.3)	0.02 (n.d.-0.1)	1.1 (0.1-2.0)	n.d. (n.d.-0.02)	n.d. (n.d.-0.05)	0.1	n.d. (n.d.-0.01)	n.d. (N/A)	n.d. (n.d.-0.01)	n.d. (N/A)
UA-HN-UA (1S)	n.d. (n.d.-0.03)	0.04 (n.d.-0.25)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d.	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	0.10 (0.08-0.11)
(HNAC-UA) ₂ (1S)	n.d. (n.d.-0.01)	n.d. (n.d.-0.02)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	0.27 (0.16-0.58)	n.d. (N/A)	0.04	n.d. (n.d.-0.04)	n.d. (N/A)	0.01 (n.d.-0.29)	n.d. (N/A)
(HNAC-UA) ₂ (2S)	n.d. (n.d.-0.7)	0.1 (n.d.-0.7)	0.1 (n.d.-0.2)	n.d. (n.d.-0.2)	0.1 (n.d.-0.4)	0.1 (n.d.-0.3)	3.0	n.d. (n.d.-0.9)	0.2 (0.1-0.2)	0.9 (0.4-2.4)	n.d. (N/A)
(Hex-HNAC) ₂ (2S)	n.d. (n.d.-0.03)	n.d. (n.d.-0.01)	n.d. (n.d.-0.01)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d.	n.d. (N/A)	0.23 (0.03-0.43)	n.d. (n.d.-0.04)	n.d. (N/A)
(HN-UA) ₂ -HNAC (S)	n.d. (n.d.-0.02)	n.d. (n.d.-0.02)	n.d. (N/A)	0.01 (n.d.-0.02)	n.d. (N/A)	0.20 (0.19-0.33)	n.d.	n.d. (n.d.-0.01)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)	n.d. (N/A)

Values are the median concentration (mmol/mol creatinine) for each group with the range shown in parentheses. Bold results depict the signature oligosaccharide
MPS, mucopolysaccharidosis; n.d., below the limit of quantification

Saville JT, 2019

GAG LC-MS/MS

Marker Names, Retention Times, MRMs, and Tuning Information for AB Sciex 6500

Marker	Disease	Retention Time (RT)	MRM	DP	EP	CE	CXP
UA-GalNAc-4S	Internal Standard	3.6 min	788.1 > 534.1	-70	-10	-35	-25
UA-HNAc (1S) (early RT)	MPS-I	3.6 min	806.3 > 294.9	-84	-10	-45	-25
UA-HNAc (1S) (late RT)	MPS-II	4.1 min	806.3 > 294.9	-84	-10	-45	-25
UA-HNAc-UA (1S)	MPS-II	4.2 min	982.3 > 330.9	-87	-10	-41	-27
HN-UA (1S)	MPS-III A	4.3 min	764.2 > 331.1	-80	-10	-45	-25
(HNAc-UA)2(1S)	MPS-IIIB	3.9 min	1185.2 > 931.4	-80	-10	-45	-25
(HN-UA)2-HNAc (1S)	MPS-IIIC	3.6 min	691.8 > 605.0	-40	-10	-24	-25
HNAc (1S), "GlcNAc(6S)"	MPS-IIID	4.0 min	630.4 > 256.1	-80	-10	-45	-25
HNAc (1S), "GalNAc(6S)"	MPS-IVA	4.4 min	630.4 > 256.1	-80	-10	-45	-25
(Hex-HNAc)2 (2S)	MPS-IVB	3.1 min	1240.0 > 256.1	-87	-10	-41	-25
HNAc (1S), "GalNAc(4S)"	MPS-VI	4.5 min	630.4 > 256.1	-80	-10	-45	-25
UA-HN-UA (1S)	MPS-VII	4.1 min	940.0 > 331.1	-80	-10	-44	-25

Herbst ZM, 2023

Oligosaccharides **LC-MS/MS**

Clin Chem. 2013 Sep;59(9):1357-68. doi: 10.1373/clinchem.2012.201053. Epub 2013 May 15.

Oligosaccharide analysis in urine by maldi-tof mass spectrometry for the diagnosis of lysosomal storage diseases.

Xia B¹, Asif G, Arthur L, Pervaiz MA, Li X, Liu R, Cummings RD, He M.

Rapid Commun Mass Spectrom. 2017 Jun 15;31(11):951-963. doi: 10.1002/rcm.7860.

Development of a new tandem mass spectrometry method for urine and amniotic fluid screening of oligosaccharidoses.

Piraud M¹, Pettazzoni M¹, Menegaut L^{1,2}, Caillaud C³, Nadjar Y⁴, Vianey-Saban C^{1,5}, Froissart R^{1,6}.

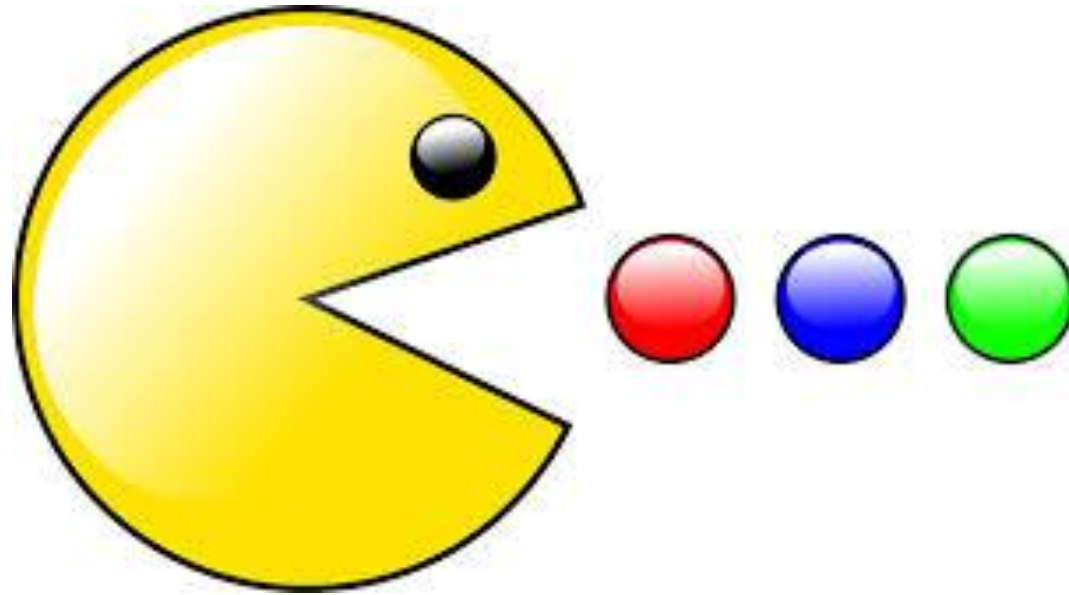
➤ J Clin Lab Anal. 2025 Jan;39(1):e25131. doi: 10.1002/jcla.25131. Epub 2024 Dec 27.

Lysosphingolipid Quantitation in Plasma and Dried-Blood Spots Using Targeted High-Resolution Mass Spectrometry

Franklin Ducatez^{1 2}, Wladimir Mauhin³, Jules Ottaviani¹, Thomas Plichet¹, Carine Pilon¹, Olivier Lidove³, Frédéric Barbey⁴, Régine Perrichot⁵, Sabrina Vergnaud⁶, Marc G Berger^{7 8}, Juliette Berger^{7 8}, Nadia Belmatoug⁹, Yann Nadjar¹⁰, Foudil Lamari¹¹, Esther Noel¹², Stéphane Marret², Soumeya Bekri¹, Abdellah Tebani¹

Affiliations + expand

PMID: 39727194 PMCID: [PMC11737120](#) DOI: [10.1002/jcla.25131](#)



Activité des enzymes lysosomales

Activité des enzymes

Méthodes	Matrice
Fluorimétrie	Leucocytes
	Fibroblastes
	DBS
LC-MS/MS	DBS
Microfluidique digitale	DBS

Contrôle de l'intégrité cellulaire

Dosage de l'activité d'une autre enzyme lysosomale

Activité souvent basse voire indétectable

Activité des enzymes lysosomales

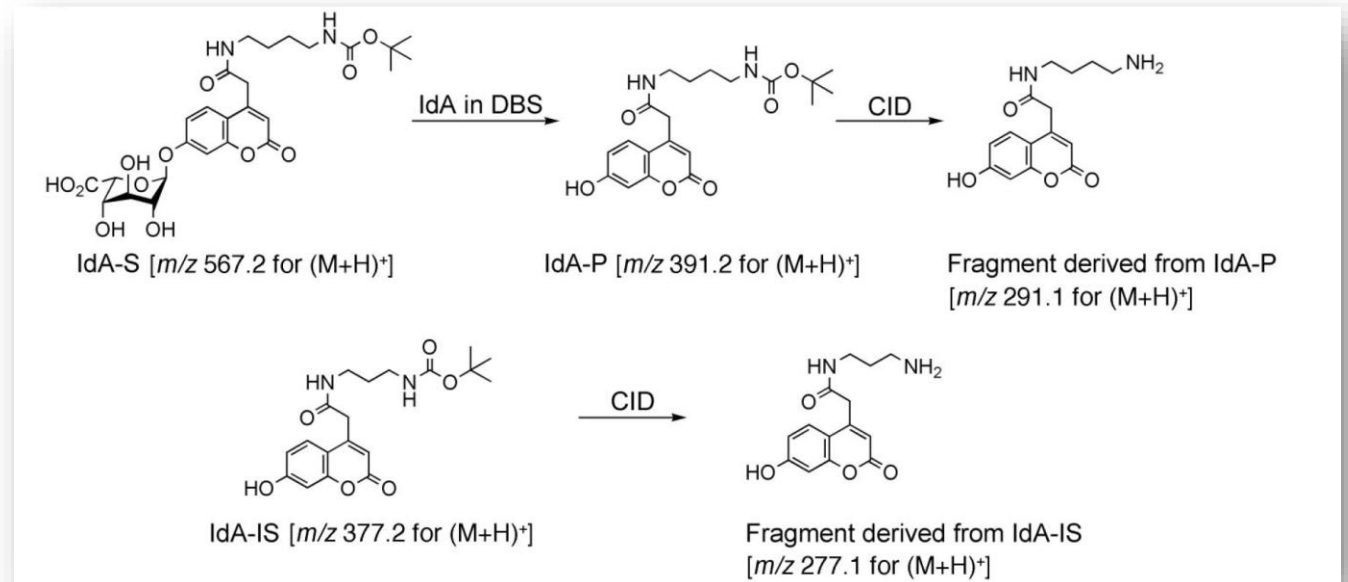
Méthodes

LC-MS/MS

Matrice

DBS

MPS I	Fabry
MPS II	Pompe
MPSIIB	Gaucher
MPSIVA	Niemann-Pick A/B
MPSIIIA	Krabbe
MPSIVB	Leucodystrophie
MPS VI	Metachromatique
MPS VII	Alpha mannosidose
CLN2	Fucosidose..



Blanchard S. *et al.* Clin. Chem. 2008



Etude Moléculaire

NGS & MHM

Le diagnostic des MLS peut être omis ou retardé

Similitudes des tableaux cliniques

Plusieurs maladies peuvent avoir le même phénotype clinique

Hétérogénéité clinique

Une même altération génétique associée à plusieurs présentations cliniques



Les procédures de diagnostic biologique conventionnelles sont basées sur des investigations séquentielles



Développement d'un panel NGS

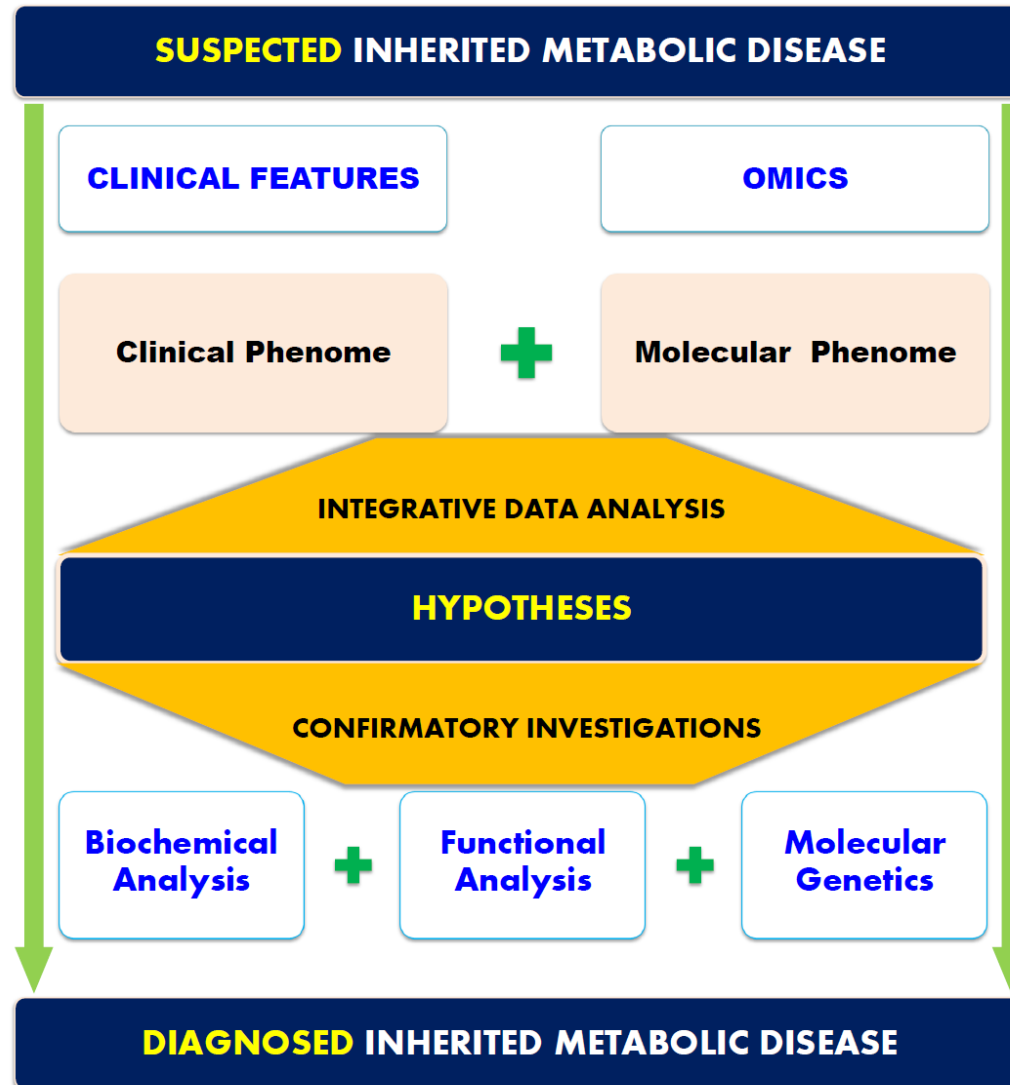
NGS & MHM

Analyse NGS combinée à une analyse **bioinformatique robuste** → Identification de variants pathogènes

La caractérisation fonctionnelle des effets de l'altération génique permet de **confirmer le diagnostic**

Ce changement de paradigme permet d'améliorer le taux diagnostique

Paradigm Shift



Tebani A. *et al.* JIMD 2017

Bases biochimiques des maladies héréditaires du métabolisme

Pr. Soumeya BEKRI

Laboratoire de Biochimie Métabolique - CHU de Rouen