

## Les porphyries héréditaires : de la biochimie clinique à la pathologie moléculaire

L'identification des lésions biochimiques des porphyries est aujourd'hui complète. C'est à l'analyse fine des gènes codant pour les protéines en cause et de leurs anomalies que s'attaque la recherche, en attendant d'entreprendre la thérapeutique, éventuellement génétique, de ces affections.

---

Hubert de Verneuil  
Bernard Grandchamp  
Jean-Charles Deybach  
Carole Beaumont  
Yves Nordmann

---

**L**es porphyries représentent un ensemble de maladies métaboliques caractérisées par une synthèse, une accumulation et une excrétion accrues de porphyrines et/ou de leurs précurseurs, acide delta aminolévulinique et porphobilinogène (*figure 1*).

Elles sont classiquement regroupées en porphyries hépatiques et porphyries érythropoïétiques selon le tissu dans lequel prédomine le trouble métabolique (*Tableau I*). Chaque type de porphyrie présente un profil d'excrétion spécifique durant les crises tandis que les manifestations cliniques sont polymorphes et souvent non caractéristiques. Depuis les années 1970, des progrès très importants ont été réalisés dans la connaissance de ces maladies puisque chaque porphyrie a pu être reliée à un déficit enzymatique d'une des enzymes de la biosynthèse de l'hème [1, 2] (*Tableau II*). Les différentes manifestations cliniques des porphyries (signes cutanés, abdominaux, neurologiques) ainsi qu'une coloration rouge-porto des

urines conduisent à demander un dosage des porphyrines et de leurs précurseurs dans les différents milieux biologiques (urines, sang et selles). Le dosage de l'activité de l'enzyme spécifiquement déficitaire permet de confirmer le type de la porphyrie et d'engager une enquête familiale : la recherche des porteurs asymptomatiques est en effet fondamentale pour assurer la prévention des accidents liés à la prise de certains médicaments dits « porphyrinogéniques ». S'agissant pour la plupart de maladies dominantes à pénétrance faible (un sujet porteur du déficit enzymatique sur dix développera la maladie), leur fréquence est très difficile à évaluer : en France, la porphyrie aiguë intermittente et la porphyrie cutanée prédominent largement.

L'hétérogénéité des mutations au sein des différents types de maladies a pu être démontrée aussi bien par l'étude des propriétés cinétiques et du « turnover » des différentes enzymes que par la mise en évidence ou non d'une protéine immunoréactive depour-

---

### ADRESSES

Service de Biochimie, Hôpital Louis-Mourier, 178 rue des Renouillers, 92701 Colombes Cedex.

Laboratoire de génétique moléculaire, faculté de médecine Xavier-Bichat, 16 rue Henri-Huchard, 75018 Paris.

## RÉFÉRENCES

1. Kappas A, Sassa S, Anderson KE. The Porphyrrias. In : Stanbury JB, Wyngaarden DS, Frederickson DS, Goldstein JL, Brown MS, eds. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. New York : Mc Graw Hill, 1983 : 1301-84.
2. Elder GH. Metabolic abnormalities in the porphyrias. *Seminars in Dermatology* 1986 ; 5 : 88-98.
3. Sassa S. Sequential induction of heme pathway enzymes during erythroid differentiation of mouse Friend Leukemia virus-infected cells. *J Exp Med* 1976 ; 143 : 305-10.
4. Beaumont C, Deybach JC, Grandchamp B, Da Silva V, de Verneuil H, Nordmann Y. Effects of succinylacetone on dimethylsulfoxide-mediated induction of heme pathway enzymes in mouse Friend virus-transformed erythroleukemia cells. *Exp Cell Res* 1984 ; 154 : 474-84.
5. Borthwick IA, Srivastava G, Day AR, et al. Complete nucleotide sequence of hepatic 5 aminolevulinate synthase precursor. *Eur J Biochem* 1985 ; 150 : 481-4.
6. Yamamoto M, Yew NS, Federspiel M, Dodgson JB, Hayashi N, Engel JD. Isolation of recombinant cDNAs encoding chicken erythroid delta aminolevulinate synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 3702-6.
7. Maguire DJ, Day AR, Borthwick IA, et al. Nucleotide sequence of the chicken 5 aminolevulinate synthase gene. *Nucleic Acid Res* 1986 ; 14 : 1379-91.
8. Wetmur JG, Bishop DF, Cantelmo C, Desnick RJ. Human delta aminolevulinate dehydratase : nucleotide sequence of a full-length cDNA clone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 7703-7.
9. Grandchamp B, Roméo PH, Dubart A, et al. Molecular cloning of a cDNA sequence complementary to porphobilinogen deaminase mRNA from rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984 ; 81 : 5036-40.
10. Raich N, Roméo PH, Dubart A, Beaupain D, Cohen-Solal M, Goossens M. Molecular cloning and complete primary sequence of human erythrocyte porphobilinogen deaminase. *Nucleic Acid Res* 1986 ; 14 : 5955-67.
11. Grandchamp B, de Verneuil H, Beaumont C, Chrétien S, Walter O, Nordmann Y. Tissue-specific expression of porphobilinogen deaminase : two isoenzymes from a single gene. *Eur J Biochem* 1986 (sous presse).
12. Roméo PH, Dubart A, Grandchamp B, et al. Isolation and identification of a cDNA clone coding for rat uroporphyrinogen decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984 ; 81 : 3346-50.

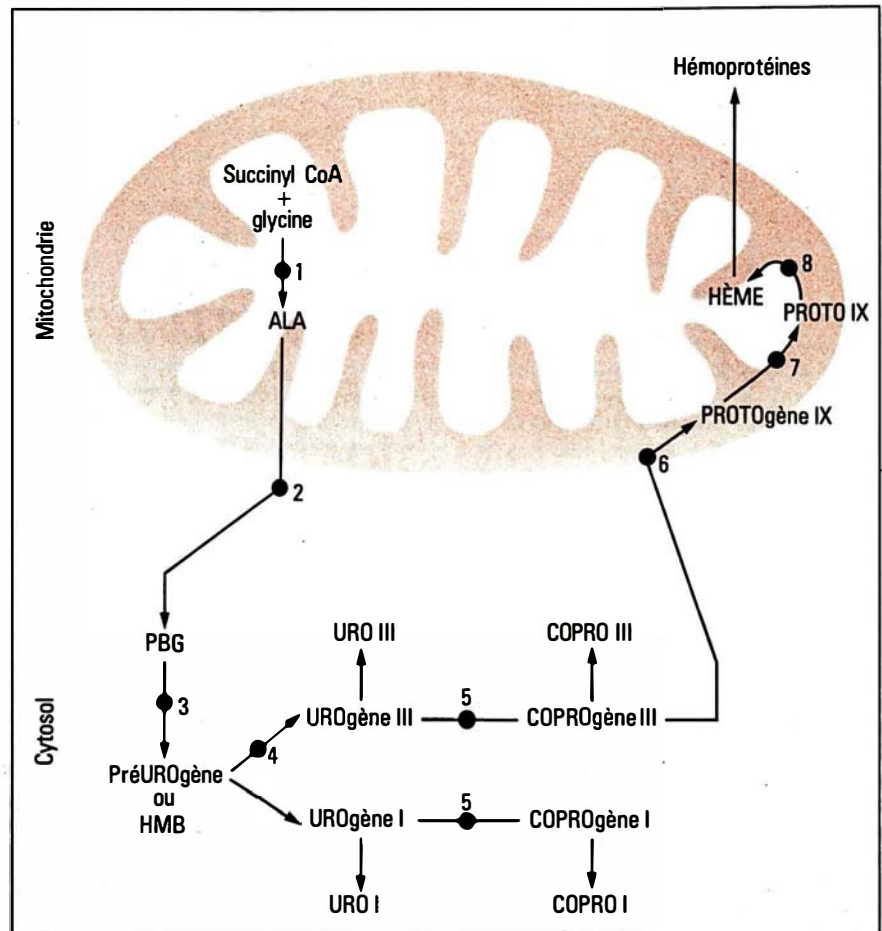


Figure 1. **Biosynthèse de l'hème : différentes étapes et compartimentation cellulaire.** ALA : acide  $\delta$  aminolévulinique. PBG : porphobilinogène. HMB : hydroxyméthylbilane. URO : uroporphyrine. UROgène : uroporphyrinogène. COPRO : coproporphyrine. COPROgène : coproporphyrinogène. PROTO : protoporphyrine. PROTOgène : protoporphyrinogène. Enzymes cytosoliques : 2. Aminolévulinate déshydratase. 3. Porphobilinogène désaminase ou hydroxyméthylbilane synthétase. 4. Uroporphyrinogène III cosynthétase. 5. Uroporphyrinogène décarboxylase. Enzymes mitochondriales : 1. Aminolévulinate synthétase : matrice mitochondriale. 6. Coproporphyrinogène oxydase : espace intermembranaire. 7. Protoporphyrinogène oxydase : membrane interne. 8. Ferrochélatase : membrane interne, face matricielle.

## ABRÉVIATIONS

ALA : Acide  $\delta$  aminolévulinique  
 HMB : Hydroxyméthylbilane  
 COPRO : Coproporphyrine  
 COPROgène : Coproporphyrinogène  
 PBG : Porphobilinogène  
 PROTO : Protoporphyrine

PROTOgène : Protoporphyrinogène  
 URO : Uroporphyrine  
 UROgène : Uroporphyrinogène  
 PAI : Porphyrie aiguë intermittente  
 PCT : Porphyrie cutanée tardive

vue d'activité enzymatique. Le développement de la biologie moléculaire permet de poursuivre ces études directement au niveau de l'ADN.

### Biosynthèse de l'hème : les gènes

La voie métabolique de biosynthèse de l'hème est identique dans toutes les cellules de mammifères. A l'exception de l'acide delta aminolévulinique (ALA) synthétase (dont le déficit enzymatique entraîne un type d'anémie sidérolastique et non une porphyrie), il existe des arguments génétiques tendant à démontrer que chacune des enzymes impliquées dans cette chaîne métabolique est codée par un même gène dans les différents types cellulaires : en effet, pour une porphyrie donnée, le déficit enzymatique a été retrouvé dans tous les tissus étudiés.

**Localisation chromosomique.** Quatre parmi les gènes codant pour des enzymes de la synthèse de l'hème ont été localisés sur différents chromosomes humains : l'aminolévulinatase (ALA) déshydratase sur le chromosome 9 ; la porphobilinogène (PBG) désaminase sur le chromosome 11 ; l'uroporphyrinogène (URO) décarboxylase sur le chromosome 1 (région p34) et la coproporphyrinogène oxydase sur le chromosome 9. Ainsi ces enzymes qui sont fonctionnellement associées ne sont pas codées par des gènes regroupés sur le génome. Ce point est spécialement intéressant à étudier car l'on sait qu'il existe une induction coordonnée de ces enzymes au cours de la différenciation érythroïdique [3, 4]. Il est raisonnable de penser que cette expression coordonnée doit être sous la dépendance de gènes de régulation (agissant par l'intermédiaire de facteurs diffusibles se fixant à l'ADN), plutôt que sous la dépendance directe des gènes de structure.

**ADN complémentaires et/ou gènes clonés.** L'étude moléculaire des gènes codant pour les enzymes de la biosynthèse de l'hème a débuté pour 4 d'entre eux :

- *L'ALA synthétase.* Chez les mammifères et les oiseaux, l'ALA synthétase hépatique diffère de

Tableau I LES PRINCIPAUX TYPES DE PORPHYRIES HUMAINES	
<b>Porphyries hépatiques</b>	
– Porphyries hépatiques aiguës	• Porphyrie aiguë intermittente
	• Coproporphyrurie héréditaire
	• Porphyrie variegata
– Porphyries cutanées	• Porphyrie cutanée sporadique (Type I)
	• Porphyrie cutanée familiale (Type II)
	• Porphyrie hépatoérythrocytaire*
<b>Porphyries érythroïdiques</b>	
– Porphyrie érythroïdique congénitale	
– Protoporphyrurie**	

\* Porphyrie dans laquelle le trouble métabolique s'exprime aussi dans le système érythroïdique.

\*\* Porphyrie dans laquelle le trouble métabolique s'exprime aussi dans le foie.

Tableau II PORPHYRIES HUMAINES : MODE DE TRANSMISSION ET DÉFICITS ENZYMATIQUES			
Maladie	Mode de transmission	Enzyme déficitaire : activité par rapport aux contrôles	Organes dans lesquels le déficit a été démontré
Porphyrie aiguë intermittente	autosomique dominant	PBG désaminase : 50 %	Foie, érythrocytes, fibroblastes, cellules amniotiques, lymphoblastes
Coproporphyrurie	autosomique dominant	COPROgène oxydase : 50 %	Fibroblastes, foie, lymphocytes
Porphyrie variegata	autosomique dominant	PROTOgène oxydase : 50 %	Cellules de la moelle osseuse, fibroblastes, lymphocytes
Porphyrie cutanée	type I : sporadique	?	Foie uniquement
	type II : familial	autosomique dominant	UROgène décarboxylase : 50 %
Porphyrie hépatoérythrocytaire	autosomique récessif ?	UROgène décarboxylase : 5-14 %	Erythrocytes, lymphocytes, fibroblastes
Protoporphyrurie	autosomique dominant	Ferrochélatase : 14-35 %	Moelle osseuse, foie, fibroblastes, sang, lymphocytes
Porphyrie érythroïdique congénitale	autosomique récessif	UROgène III cosynthétase : 2-25 %	Erythrocytes, fibroblastes

## RÉFÉRENCES

13. Roméo PH, Raich N, Dubart A, *et al.* Molecular cloning and nucleotide sequence of a complete human uroporphyrinogen decarboxylase cDNA. *J Biol Chem* 1986 ; 261 : 9825-31.
14. Borthwick IA, Srivastava G, Hobbs AA, *et al.* Cellular Regulation and Malignant Growth. In : Ebashi S, ed. Tokyo : Springer Verlag (Berlin), 1985 : 144-51.
15. Ponka P, Schulman HM. Regulation of heme synthesis in erythroid cells by iron delivery from transferrin. In : Nordmann Y, ed. *Porphyrias and Porphyrias*. Colloque Inserm/John Libbey Eurotext 1986 ; 134 : 55-67.
16. Mustajoki P. Normal erythrocyte uroporphyrinogen I synthase in a kindred with acute intermittent porphyria. *Ann Intern Med* 1981 ; 95 : 162-6.
17. De Verneuil H, Aitken G, Nordmann Y. Familial and sporadic porphyria cutanea tarda : two different diseases. *Hum Genet* 1978 ; 44 : 145-51.
18. Pinol Aguadé J, Castells A, Indacochea A, Rodes J. A case of biochemically unclassifiable hepatic porphyria. *Br J Dermatol* 1969 ; 81 : 270-4.
19. Elder GH, Smith SG, Herrero C, *et al.* Hepato-erythropoietic : a new uroporphyrinogen decarboxylase defect or homozygous porphyria cutanea tarda? *Lancet* 1981 ; i : 916-9.
20. De Verneuil H, Beaumont C, Deybach JC, Nordmann Y, Sfar Z, Kastally R. Enzymatic and immunological studies of uroporphyrinogen decarboxylase in familial porphyria cutanea tarda and hepatoerythropoietic porphyria. *Am J Hum Genet* 1984 ; 36 : 613-22.
21. Desnick RJ, Ostasiewicz LT, Tishler PA, Mustajoki P. Acute intermittent porphyria : characterization of a novel mutation in the structural gene of porphobilinogen deaminase. *J Clin Invest* 1985 ; 76 : 865-74.
22. Elder GH, Urquhart AJ, De Salamanca RE, Munoz JJ, Bonkowsky HL. Immunoreactive uroporphyrinogen decarboxylase in liver in porphyria cutanea tarda. *Lancet* 1985 ; i : 229-33.
23. De Verneuil H, Grandchamp B, Beaumont C, Picat C, Nordmann Y. Uroporphyrinogen decarboxylase structural mutant (Gly 281 - Glu) in a case of porphyria. *Science* 1986 ; 234 : 732-4.
24. Belmont JW, Henrel-Tigges J, Chang SMW, *et al.* Expression of human adenosine deaminase in murine haematopoietic progenitor cells following retroviral transfer. *Nature* 1986 ; 322 : 385-7.

l'enzyme présente dans le tissu érythropoïétique et il est clairement établi que les deux enzymes résultent de la traduction de deux ARNm différents. L'analyse des ADN complémentaires des messagers érythropoïétiques et hépatiques [5, 6] suggère fortement l'existence d'au moins deux gènes distincts dont les séquences nucléotidiques ne présentent pas d'hybridation croisée [7]. Ce problème est intéressant d'un point de vue fondamental pour l'étude de la régulation de l'expression génétique et aussi d'un point de vue appliqué pour l'étude du déficit enzymatique en ALA synthétase retrouvé dans les érythroblastes de certaines formes d'anémie sidéroblastique congénitale.

• *L'ALA déshydratase.* Le clonage d'un ADN complémentaire de l'ARN messager de l'ALA déshydratase humaine a été récemment rapporté [8]. La différence de séquence nucléotidique entre plusieurs clones est peut-être à la base du polymorphisme génétique trouvé au niveau de la protéine (isoenzymes de charge différente).

• *La PBG désaminase.* L'étude moléculaire de la PBG désaminase a débuté par le clonage et la caractérisation d'un ADN complémentaire de l'ARNm de rate érythropoïétique de rat [19]. Des clones ADN complémentaires des ARN messagers humains de type érythropoïétique et non érythropoïétique ont été ensuite isolés

[10, 11]. La comparaison des séquences protéiques déduites des séquences nucléotidiques indique que la PBG désaminase de cellules non érythropoïétiques diffère de la PBG désaminase érythropoïétique par la présence d'un peptide de 17 acides aminés à l'extrémité NH<sub>2</sub> terminale [11]. Les résultats déjà obtenus par notre groupe et le groupe de Michel Goossens à Créteil (Unité Inserm U.91) permettent de proposer le modèle d'expression génétique suivant : le gène de la PBG désaminase contiendrait deux régions promotrices (P1 et P2) et chacune de ces régions serait spécifiquement utilisée pour l'initiation de la transcription (P1 dans la plupart des types cellulaires et P2, seulement dans les cellules érythropoïétiques, à partir d'un certain stade de maturation) ; un épissage différent, dépendant du promoteur utilisé, conduirait à des ARNm de structure AC ou BC codant pour une PBG désaminase respectivement de type non érythropoïétique ou érythropoïétique (figure 2).

• *L'URO décarboxylase.* L'ADN complémentaire de l'ARN messager extrait de rate érythropoïétique a été cloné chez le rat [12] et chez l'homme [13]. Le gène est présent à l'état unique dans le génome humain et une seule et même espèce d'ARN a été mise en évidence dans les différents tissus. La plus grande abondance du

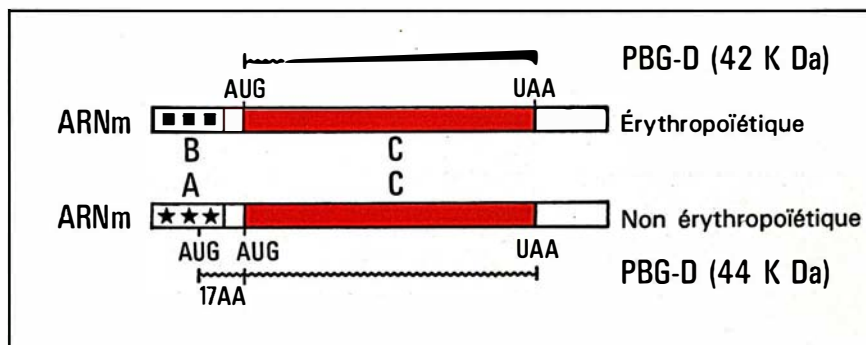


Figure 2. Les 2 ARNm de la PBG désaminase. A : séquence spécifique de l'ARNm non érythropoïétique. B : séquence spécifique de l'ARNm érythropoïétique. C : séquence commune aux deux types d'ARNm.

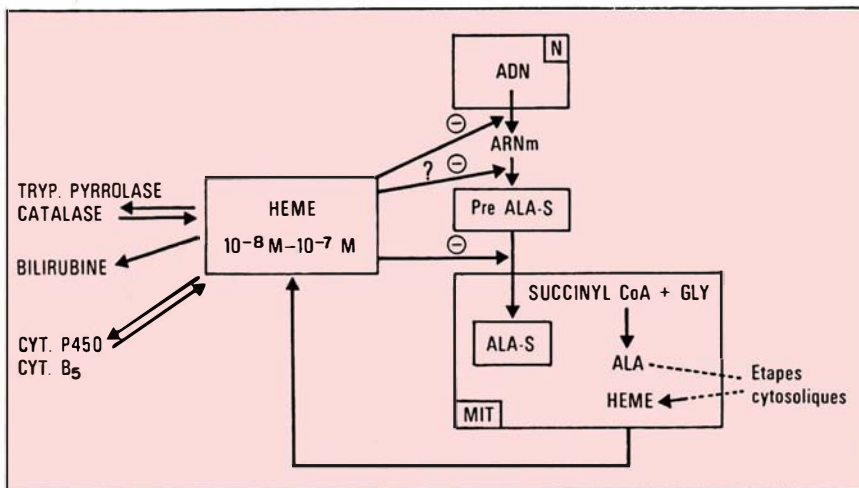


Figure 3. Régulation de l'ALA synthétase par l'hème dans le foie. N = Noyau ; MIT = Mitochondrie ; TRYP.PYRROLASE = Tryptophane pyrrolase.

messenger dans le tissu érythropoïétique est en relation avec une transcription plus importante du gène dans ce dernier tissu que dans les autres types cellulaires [13].

### Biosynthèse de l'hème : régulation

**Régulation de l'activité de l'ALA synthétase par l'hème.** L'hème, produit final de la chaîne de biosynthèse, exerce un rétrocontrôle négatif sur l'ALA synthétase hépatique. L'inhibition de l'enzyme a été démontrée in vitro mais à des concentrations d'hème très élevées ( $10^{-4}$ M), ce qui n'a pas de signification sur le plan physiologique. La répression de la synthèse de l'ALA synthétase par l'hème est en revanche d'une importance fondamentale : c'est à des concentrations physiologiques ( $10^{-8}$  à  $10^{-7}$ M) que l'hème s'oppose à l'induction de l'ALA synthétase par certaines drogues. Le contrôle de la synthèse enzymatique peut se faire à différents niveaux : transcriptionnel, traductionnel, post-traductionnel. Le contrôle post-traductionnel a été mis en évidence par plusieurs groupes : l'hème inhibe la matu-

ration du précurseur de l'ALA synthétase et l'incorporation de l'enzyme mature dans la matrice mitochondriale. Enfin, des expériences récentes ont montré que l'hème était capable de prévenir l'accumulation des messagers de l'ALA synthétase [14]. Les différents niveaux de la régulation exercée par l'hème sont résumés dans la figure 3.

**Induction de l'ALA synthétase hépatique par des composés chimiques.** Depuis vingt ans environ, un certain nombre de composés chimiques, sans parenté structurale, ont été utilisés pour provoquer, chez l'animal entier ou sur des cultures de foie d'embryon de poulet, des anomalies du métabolisme des porphyrines très proches de celles constatées dans les porphyries humaines. Citons l'allylisopropylacétamide (AIA), la dicarbéthoxydihydrocollidine (DDC), la griséofulvine, le succinylacétone (analogue structural de l'ALA), l'hexachlorobenzène (HCB), de nombreux médicaments (barbituriques), les hormones stéroïdes, le plomb. Tous ces composés, bien que de structures très diverses, induisent rapidement une augmentation importante de

l'activité de l'ALA synthétase. Cette augmentation est liée à une diminution de la concentration intracellulaire de l'hème libre et, par conséquent, une diminution de la répression de la synthèse de l'enzyme (figure 4). La décroissance de l'hème libre peut être liée à un blocage d'une (ou plusieurs) enzymes de la chaîne de biosynthèse (plomb, DDC, griséofulvine, succinylacétone), à une destruction de l'hème (AIA, apronalide), ou encore à une augmentation de l'utilisation de l'hème par stimulation de la synthèse de l'apoprotéine des hémoprotéines du groupe du cytochrome P450 : cette apoprotéine a une haute affinité pour l'hème et va donc contribuer à la diminution de l'hème libre. Le cytochrome P450 (cytochrome microsomal) joue un rôle majeur dans la « détoxification » par le foie de nombreuses drogues : sa concentration augmente lors de l'administration de ces drogues. Ces différentes considérations physiopathologiques sont à prendre en compte lors du traitement des crises de porphyrie : a) il faut s'assurer que les médicaments utilisés pour le traitement symptomatique ne sont pas des inducteurs ; b) l'hématine (dérivé de l'hème, produit final) qui est utilisée pour réprimer l'ALA synthétase entraîne une réduction rapide de l'accumulation des précurseurs et/ou de leurs dérivés avec pour conséquence une disparition progressive des signes neurologiques.

**Régulation dans le système érythropoïétique.** Un effet régulateur de l'hème sur l'ALA synthétase reste controversé dans le système érythropoïétique. Différents travaux suggèrent que la biosynthèse de l'hème n'est pas limitée par l'activité de l'ALA synthétase mais plutôt par une étape encore mal précisée du métabolisme cellulaire du fer [15]. Lors de la différenciation érythropoïétique, l'activité des enzymes de la chaîne de biosynthèse de l'hème augmente de façon précoce et coordonnée. Cette induction est la conséquence d'une augmentation de l'activité transcriptionnelle

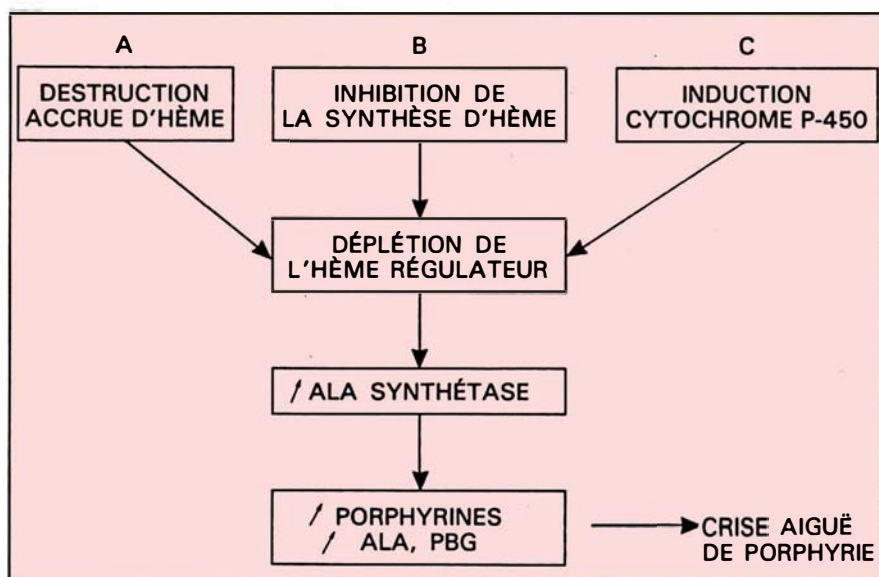


Figure 4. **Porphyries expérimentales et mécanismes du déclenchement des crises aiguës dans les porphyries hépatiques.** Une porphyrie expérimentale peut être réalisée par l'un des trois mécanismes A, B ou C. Chez un individu porphyrique, l'association des mécanismes B (par déficit enzymatique héréditaire) et C (par prise de médicaments inducteurs comme les barbituriques) est le plus souvent responsable du déclenchement de la crise aiguë.

des gènes correspondants. De plus, l'hème joue un rôle dans la régulation de la synthèse des chaînes de globine, à la fois aux niveaux traductionnel et prétraductionnel.

### Porphyries aiguë intermittente et P. cutanée

**Porphyrie aiguë intermittente (PAI).** La PAI se manifeste par la survenue de crises aiguës de la maladie : syndrome douloureux abdominal associé parfois à un syndrome neurologique et/ou psychiatrique [1]. Les erreurs d'orientation dans la recherche de leur étiologie peuvent conduire à de graves conséquences thérapeutiques, par exemple lors de l'emploi des barbituriques. La « crise » de porphyrie est confirmée par les dosages biologiques (notamment l'augmentation des précurseurs) et le type de la porphyrie affirmé par le dosage enzymatique (déficit en PBG désaminase dans ce cas). La maladie a une transmission autosomique dominante. Un cas particulier de PAI a été décrit où le déficit enzymatique n'existerait pas

dans le système érythropoïétique, mais serait limité au foie et aux autres tissus non érythropoïétiques [16].

**Porphyrie cutanée symptomatique (ou porphyrie cutanée tardive, PCT).** Contrairement aux autres porphyries hépatiques, les manifestations cliniques de cette porphyrie sont essentiellement cutanées. Des données récentes permettent d'en distinguer deux types [17] : le type sporadique (type I) de survenue tardive, qui apparaît généralement en association avec d'autres désordres hépatiques (d'origine éthylique le plus souvent) ou avec la prise d'oestrogènes : l'activité de l'URO décarboxylase érythrocytaire est normale. Le déficit enzymatique est limité au foie ; l'origine, héréditaire ou acquise, de la maladie n'a pu être encore clairement établie ; le type familial (type II) qui apparaît aussi bien chez les enfants que chez les adultes, sans désordre hépatique manifeste ; plusieurs cas peuvent être détectés dans une même famille ; l'hérédité de la maladie se manifeste sur le mode autosomique dominant. L'activité de l'URO décarboxylase éry-

throcytaire est abaissée de 50 % par rapport à l'activité normale. Le déficit se retrouve dans toutes les cellules de l'organisme.

La porphyrie hépatoérythrocytaire (HEP) est une forme sévère de porphyrie qui associe des troubles hématologiques aux manifestations cutanées [18]. Le profil d'excrétion des porphyrines dans les urines et les selles est tout à fait similaire à celui rencontré dans la porphyrie cutanée. Dans tous les cas étudiés, un important déficit enzymatique en URO décarboxylase a pu être mis en évidence dans les érythrocytes, les lymphocytes ou les fibroblastes, compatible avec une transmission autosomique récessive de la maladie [19, 20]. Bien que cela soit vraisemblable, il est néanmoins impossible de conclure que la porphyrie hépatoérythrocytaire est une forme homozygote de la porphyrie cutanée familiale : en effet, une porphyrie cutanée cliniquement manifeste n'a jamais à notre connaissance été décrite dans une famille comportant un ou plusieurs malades atteints de porphyrie hépatoérythrocytaire. L'analyse moléculaire des mutations responsables de ces différentes conditions permettra seule d'affirmer que la porphyrie hépatoérythrocytaire est caractérisée par un ensemble de mutations qui se différencient de la ou les mutations retrouvées dans la porphyrie cutanée familiale.

### Étude moléculaire du déficit enzymatique

La porphyrie aiguë intermittente (déficit en PBG désaminase) ainsi que la porphyrie cutanée familiale et la porphyrie hépatoérythrocytaire (déficits en URO décarboxylase) sont les principales porphyries pour lesquelles la caractérisation moléculaire des mutations a débuté depuis quelques années.

**Porphyrie aiguë intermittente.** L'étude de la protéine déficiente à l'aide d'anticorps spécifiques a pu mettre en évidence une hétérogénéité des mutations dans la PAI [21]. En effet, trois types de déficit en PBG désaminase ont été

identifiés : le type le plus fréquent se caractérise par un déficit enzymatique généralisé et l'absence de protéine inactive immunologiquement décelable (cas CRM -). Un autre type se distingue par la présence dans les cellules d'enzyme immunologiquement détectable en plus ou moins grande quantité selon les familles étudiées, mais dépourvue d'activité enzymatique (cas CRM +). Enfin, dans certaines familles, le déficit enzymatique apparaît limité aux cellules non érythroïétiques : l'activité de la PBG désaminase érythrocytaire est normale. La mutation pourrait se situer dans l'exon exprimé spécifiquement dans les cellules non érythroïétiques ou dans le promoteur non érythroïétique.

**Porphyrie cutanée familiale et porphyrie hépatoérythrocytaire.** Les études immunologiques effectuées sur l'URO décarboxylase érythrocytaire chez les patients atteints de porphyrie cutanée familiale n'ont pu mettre en évidence une protéine anormale dépourvue d'activité enzymatique [20, 22]. A ce stade d'étude, on ne peut conclure sur le degré d'hétérogénéité de la maladie : néanmoins, l'enseignement apporté par les autres maladies métaboliques héréditaires permet de supposer que de nombreuses mutations sont probablement responsables de ces différents cas CRM -. Les recherches sur la porphyrie hépatoérythrocytaire sont plus avancées : ceci s'explique par le fait qu'il s'agit d'une transmission récessive avec atteinte des deux allèles (homozygotie vraie ou double hétérozygotie). L'hétérogénéité de la maladie a pu être mise en évidence par l'étude de quatre familles : trois mutations différentes au moins ont été détectées : un cas CRM + a été décrit ; les autres cas (CRM - ou non précisés) correspondent à une diminution du taux de synthèse de la protéine ou à une dégradation rapide de cette dernière. La caractérisation moléculaire d'un cas CRM - a été très récemment effectuée dans notre laboratoire par l'étude de la séquence de

l'ADNc : il s'agit d'une mutation ponctuelle en position 281 (remplacement d'une glycine par un acide glutamique) rendant la protéine très sensible aux protéases endocellulaires [23]. L'utilisation d'oligonucléotides de synthèse permettra de déterminer s'il s'agit d'un cas unique ou bien d'une mutation commune à d'autres familles atteintes d'un déficit en URO décarboxylase, qu'il s'agisse de porphyrie hépatoérythrocytaire ou de porphyrie cutanée familiale.

### Perspectives

L'étude des bases métaboliques responsables des différentes porphyries bénéficie actuellement de l'introduction dans ce domaine des techniques de la biologie moléculaire. La caractérisation des mutations et de leurs conséquences fonctionnelles doit aider à la compréhension de l'expression génétique normale des gènes de la biosynthèse de l'hème.

La possibilité de suivre les mutations par l'étude de l'ADN constituera en même temps, au sein des familles atteintes de porphyries hépatiques aiguës, une aide au diagnostic des porteurs dans le cas où l'enquête familiale par dosage enzymatique s'avère non concluante. En effet, en raison de la variabilité interindividuelle des valeurs normales de l'activité enzymatique, il est impossible de distinguer entre normal et porteur sain dans environ 10 % des cas. Or l'enquête familiale est fondamentale pour la prévention des crises aiguës de la maladie.

Enfin une thérapie génique spécifique à l'aide d'un rétrovirus modifié [24] est tout à fait envisageable dans les prochaines années pour les formes graves de ces maladies (porphyrie érythroïétique congénitale et porphyrie hépatoérythrocytaire) : on peut, en effet, raisonnablement penser que la correction du déficit enzymatique, au niveau de la moelle osseuse, à l'aide de cellules « greffées », sera suffisante pour limiter la surproduction de précurseurs et/ou de porphyrines au niveau de l'organisme entier ■

### Summary

Porphyrias are a group of disorders due to a genetic deficiency in one of the heme biosynthetic pathway enzymes. Our knowledge of the diseases has evolved from the characterization of the heme precursors, whose abnormal accumulation is responsible for the clinical manifestations of the diseases, to the determination of the enzyme deficiency specific to each porphyria. Introduction of molecular biology techniques is now allowing a better understanding of the organization of the genes encoding these finely coordinated enzymes : their genes are dispersed on various chromosomes ; the underlying mechanism controlling the tissue-specific expression of two of these enzymes is under investigation (two separate genes encode ALA synthetase whereas two different promoters on the same gene can account for the two PBG-deaminase mRNAs). Acute intermittent porphyria, although a clinically homogeneous disease, is the consequence of heterogeneous mutations in the PBG-deaminase gene ; a point mutation (gly → glu) in the coding sequence of the URO decarboxylase gene is responsible for the instability of the enzyme in a case of hepatoerythropoietic porphyria and further studies will show if the same mutation is responsible for the familial form of porphyria cutanea tarda (a dominant disease due to a 50 % deficiency in URO decarboxylase).

### TIRÉS A PART

H. de Verneuil : INSERM-U 184 et CNRS-LGME, Institut de chimie biologique, Faculté de médecine, 11, rue Humann, 67085 Strasbourg Cedex.