

Apport pratique de la génétique dans les cholestases en pédiatrie : rapport d'un cas

Practical contribution of genetic panel in pediatric cholestasis : around a case report

BONNÉ G., KOTILEA K. et DE LAET C.

Service de Pédiatrie, Hôpital Universitaire Des Enfants Reine Fabiola (HUDERF), Université libre de Bruxelles (ULB)

RÉSUMÉ

La plupart des cholestases chroniques sont cirrhogènes et représentent la moitié des indications de transplantation hépatique de l'enfant. Le diagnostic est souvent posé à l'aide d'une biopsie hépatique, mais la génétique permet parfois d'éviter ce geste invasif tout en proposant des thérapies ciblées et un conseil génétique.

Cas clinique : un garçon de 3 ans d'origine syrienne issu d'une famille consanguine a une cholestase chronique et une petite taille. Les tests biologiques sanguins et l'imagerie permettent d'exclure les étiologies infectieuses, auto-immunes, oncologiques, métaboliques et endocriniennes. Un panel génétique de cholestase identifie un variant c.2065-8T>G homozygote au sein du gène *Adenosine TriPhosphate Binding Cassette Subfamily B Member 4* (ABCB4). La corrélation phénotype-génotype et l'étude *in-silico* permettent d'établir la pathogénicité de ce variant et le diagnostic de cholestase progressive intrafamiliale type 3 (PFIC3). Cette mutation est de mauvais pronostic avec une non-réponse au traitement par acide ursodéoxycholique et donc à long terme la nécessité d'une greffe hépatique.

Ce cas illustre l'intérêt de demander un panel génétique de cholestase dans la prise en charge des cholestases chroniques ou familiales après exclusion des causes les plus courantes pour limiter les biopsies hépatiques grevées d'un risque hémorragique.

Rev Med Brux 2020 ; 41 : 290-296

Doi : 10.30637/2020.19-048

ABSTRACT

Most chronic cholestasis are complicated with cirrhosis and represent half of the child's liver transplant indications. Diagnosis is often made with a liver biopsy. The development and appropriate use of a genetic panel for cholestasis can prevent this invasive procedure while giving access to targeted therapies through the improvement of the understanding of the biological mechanisms induced by different genetic variants.

Clinical case : a 3-year-old Syrian boy from an inbred family has chronic cholestasis and a short stature. Blood testings and imaging exclude infectious, autoimmune, oncological, metabolic and endocrine etiologies. A genetic panel of cholestasis identifies a c.2065-8T>G homozygous variant within the *Adenosine TriPhosphate Binding Cassette Subfamily B Member 4* (ABCB4) gene. The phenotype-genotype correlation and the *in-silico* study made it possible to establish the pathogenicity of this variant and the diagnosis of progressive familial intrahepatic cholestasis type 3 (PFIC3). This mutation is associated with a poor response to ursodeoxycholic acid treatment, and therefore implying the need for a liver transplant in the long term.

This case illustrates the benefit of requesting a genetic panel for cholestasis, early in the management of chronic or familial cholestasis, after exclusion of most common causes of cholestasis, limiting the morbidity associated with liver biopsy.

Rev Med Brux 2020 ; 41 : 290-296

Doi : 10.30637/2020.19-048

Key words : cholestasis, genetic panel, progressive familial intrahepatic cholestasis

INTRODUCTION

La cholestase est la conséquence d'une anomalie de formation de la bile ou d'un obstacle à l'écoulement du flux biliaire. Les causes sont multiples et le diagnostic différentiel doit être rigoureux. Notre cas clinique illustre la démarche diagnostique chez un enfant de 3 ans référé à l'hôpital pour cholestase objectivée depuis 1 mois. La plupart des cholestases chroniques sont cirrhogènes et représentent la moitié des indications de transplantation hépatique de l'enfant. Le diagnostic est souvent posé par une biopsie hépatique mais la génétique permet parfois d'éviter ce geste invasif.

CAS CLINIQUE

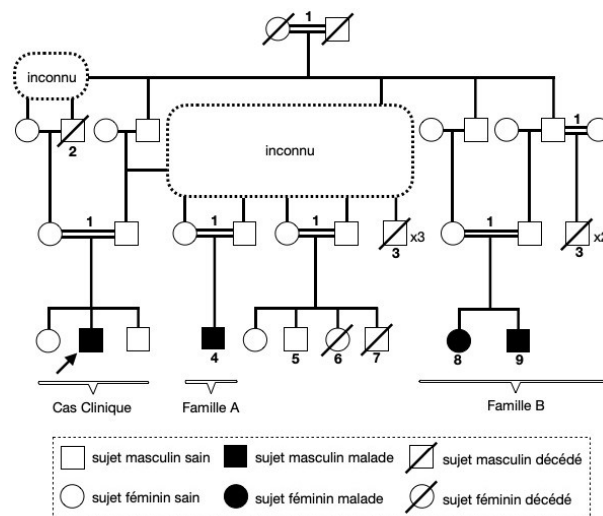
Le patient est d'origine syrienne, issu d'une famille avec une consanguinité à plusieurs niveaux et de nombreux antécédents de pathologies hépatiques sans diagnostic connu (figure 1). Il est né en Algérie, au cours du parcours migratoire de ses parents, à un terme estimé de 40 semaines par césarienne pour raison maternelle. L'adaptation à la vie extra-utérine est immédiate. Il a un retard de croissance intra-utérin avec un petit poids de naissance de 2.050g. Il est surveillé en néonatalogie où il présente un ictère au 2^e jour de vie traité par photothérapie pendant 48 h, sans hypoglycémie. Il est allaité jusque l'âge de 2 ans. Aucun supplément en vitamines ou oligoéléments n'est administré. Il arrive en Belgique vers l'âge de 1 an. Son développement psychomoteur est normal pour son âge.

Vers l'âge de 3 ans, il est progressivement plus fatigué, a moins d'appétit sans perte pondérale. Il n'a pas de fièvre et ses selles sont normales. Il n'y a pas de décrochage des courbes de croissance avec un poids de 12,6 kg (-1,2 déviations standards (DS) selon les courbes de l'Organisation mondiale de la Santé), une taille de 84,2 cm (-3 DS) et un périmètre crânien de 45,3 cm (-4,6 DS). Il est donc petit dans la population générale, mais reste dans l'intervalle de taille attendu par rapport à celle de ses parents. Le médecin traitant objective un ictère conjonctival et une hépatomégalie de 2 cm. Une prise de sang montre une altération des tests hépatiques, une carence martiale et une hypovitaminose D (tableau 1). La fonction thyroïdienne est normale ainsi que les tests sérologiques de la maladie cœliaque. Des coprocultures et recherches de parasites dans les selles sont non contributives. Une supplémentation orale en fer et en vitamine D est instaurée.

Un mois plus tard, il a de la fièvre jusque 39°C pendant 3 jours. La fatigue et l'inappétence persistent. Les parents ont l'impression que son abdomen gonfle. Il a un prurit modéré et ses urines sont plus sombres. Il a régulièrement des hématomes et un filet de sang frais sur les selles d'aspect normal. Aux services des urgences pédiatriques, ses paramètres cardiorespiratoires sont corrects. Il est en bon état général avec des conjonctives ictériques. L'abdomen est souple et indolore, on palpe une hépatomégalie à 3 cm et un pôle de rate. L'examen clinique est banal par ailleurs.

Figure 1

Arbre généalogique et antécédents familiaux.



1. Couple consanguin cousins germains ;
2. Décédé d'une insuffisance rénale d'origine indéterminée ;
3. Décès entre 2 et 3 ans d'une pathologie hépatique indéterminée ;
4. Garçon de 2 mois avec une symptomatologie identique à notre patient vers 19 mois avec anémie ferriprive, cholestase, cytolysse, cassure staturo-pondérale, carence en vitamine D et identification du même variant homozygote au sein du gène ABCB4 ;
5. Garçon de 7 ans avec hypoplasie de l'antéhypophyse secondaire à une arachnoïdocèle intrasellaire avec déficit somatotrope complet et déficit thyroïdienne, sans cytolysse ni cholestase, avec puce d'hybridation génomique comparative non contributive (CGH Array) ;
6. Décès à l'âge de 1 an dans un contexte de mal épileptique fébrile sans pathogène identifié ;
7. Décès à l'âge de 18 mois dans un contexte de retard de développement et microcéphalie ;
8. Glomérulonéphrite membranoproliférative avec dépôt de complexes immuns d'étiologie indéterminée ET cholestase chronique familiale progressive type 3 (déficit en MDR3) diagnostiqué sur base d'un immunomarquage MDR3 absent sur la biopsie hépatique réalisée à l'âge de 4 ans dans un contexte de cholestase chronique, d'hypertension portale dès 5 ans, puis de cirrhose micronodulaire à 8 ans ; identification d'un variant homozygote non connu du gène ABCB4 codant pour la protéine MDR3 ;
9. Garçon qui se présente vers 7 mois avec une symptomatologie identique à notre patient avec hypertension portale au diagnostic, anémie ferriprive, cholestase, cytolysse, cassure staturo-pondérale, carence en vitamine D et identification du même variant homozygote au sein du gène ABCB4.

Une prise de sang est réalisée (tableau 1). Une échographie hépatique ne montre pas de signe d'obstruction des voies biliaires, le parenchyme hépatique est homogène d'aspect normal à contours réguliers, sans signe de stéatose ni de cirrhose. Il n'y a pas de signe d'hypertension portale au doppler ni d'ascite. Une dose parentérale de vitamine K 10 mg est administrée, puis un bilan diagnostique (tableau 2) suggère une cholestase d'origine génétique^{1,3}.

Une cholestase progressive familiale type 3 (PFIC3) semble l'hypothèse la plus probable étant donné les

Résultats biologiques.

	Valeurs de références	- 1 mois	Admission	+ 1 mois	+ 1 an
Hb	11.5-13,5 g/dL	8,6 ↓	7,8 ↓	9,0 ↓	11,4
VCM	75-87 fL	65 ↓	67 ↓	68 ↓	87
HCM	24-30 pg	20,7 ↓	19,5 ↓	20,9 ↓	29,0
Ferritine	300-400 µg/L	12 ↓	14 ↓	17 ↓	60 ↓
Saturation de la transferrine	20-55 %	5 ↓	5 ↓	5	20
Reticulocytes	22.500-147.000/µL	54000	57.000	49.000	72.300
Plaquettes	150.000-440.000/µL	160.000	186.000	162.000	161.000
Leucocytes	6000-14500/µL	10800	9770	8830	7290
Neutrophiles	15 00-8500/µL	2620	2690	1750	2500
Lymphocytes	2000-8000/µL	6560	5370	5040	3700
Eosinophiles	< 400/µL	590 ↑	490 ↑	1090 ↑	670 ↑
AST	< 40 UI/L	221 ↑	331 ↑	274 ↑	150 ↑
ALT	< 41 UI/L	190 ↑	251 ↑	190 ↑	118 ↑
PAL	142-335 UI/L	1028 ↑	403 ↑	399 ↑	493 ↑
GGT	10-71 UI/L	460 ↑	532 ↑	438 ↑	481 ↑
Bilirubine totale	< 1,2 mg/dL	1,3 ↑	1,6 ↑	1,6 ↑	6,3 ↑
Bilirubine conjuguée	< 0,2 mg/dL	1,0 ↑	1,1 ↑	1,1 ↑	5,8 ↑
Lipase	13-60 UI/L				21
Albumine	38-54 g/L	40	39	36	36
Glycémie	70-100 mg/dL		84	83	79
PT	>70 %		69 ↓	64 ↓	81
INR	0,95-1,31		1,19	1,25	1,09
Vitamine A	0,2-0,8 mg/L		<0,1 ↓	<0,1 ↓	<0,1 ↓
25OH-vitamine D	30-80 µg/L	6 ↓	13,1 ↓	11,2 ↓	25,5 ↓
Vitamine E	3-15 mg/L		2,8 ↓	3,7	3,5
Urée	12-48 mg/dL	12	21	20	18
Créatinine	< 0,6 mg/dL	0,23	0,29	0,19	0,31
Ionogramme	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
CRP	< 10 mg/L	<2	3,9	0,6	1,4
VS	< 15 mm/h		85 ↑	48 ↑	23 ↑
IgG	0,30-3,85 g/L			10,26 ↑	
IgA	0,43-1,63 g/L			2,29 ↑	
IgM	5,40-13,30 g/L			2,38 ↓	

Hb : hémoglobine ; **VCM** : volume corpusculaire moyen ; **HCM** : concentration moyenne en hémoglobine ; **AST** : aspartate aminotransférase ; **ALT** : alanine aminotransférase ; **GGT** : gamma glutamyl-transférase ; **PT** : temps de prothrombine ; **INR** : International Normalized Ratio ; **CRP** : protéine C réactive ; **VS** : vitesse de sédimentation.

gamma-glutamyltranspeptidases (GGT) élevées avec une atteinte exclusivement hépatique d'apparition peu bruyante et peu symptomatique. Une analyse génétique confirme le diagnostic avec la présence d'un variant homozygote c.2065-8T>G du gène *Adenosine TriPhosphate Binding Cassette Subfamily B Member 4* (ABCB4).

Malgré un traitement par acide ursodéoxycholique qui a permis une légère diminution de la cytolysé hépatique (tableau 1) et une disparition du prurit, on note une progression vers une cirrhose avec l'apparition après 1 année de varices œsophagiennes et d'une splénomégalie.

DISCUSSION

Le diagnostic de PFIC3 peut être confirmé soit en identifiant un variant pathogène connu du gène ABCB4 codant pour le transporteur MDR3, soit par un immunomarquage de la protéine MDR3 négatif sur une biopsie hépatique⁴. La biopsie hépatique nécessite un acte invasif avec un risque hémorragique mais a l'avantage d'évaluer la fibrose et de donner une réponse plus rapide que la génétique actuellement. Les limitations sont que l'immunomarquage MDR3 n'est pas 100 % spécifique et sensible en particulier dans le cas où la protéine MDR3 est présente mais non fonc-

Hépatites infectieuses			
virus hépatotropes: A, B, C, Epstein-Barr Virus (EBV), Cytomégalovirus (CMV) ou parasitaire: ascaris, lombricoïdes			
anticorps négatifs IgG-IgM antiHAV, Ag HBs, Ac antiHCV, IgG-IgM EBV et CMV, recherche de parasites négative			
Hépatite auto-immune, cholangite sclérosante (souvent dans un contexte d'hépatite auto-immune)			
légère hyperIgG inflammatoire, mais absence d'anticorps antinucléaires muscle lisse, F actine, LC1, LKM1, gp210, Sp100, M2, SLA ET cholangiopancréatographie par résonance magnétique (cholangioRMN) normale			
Tumorale: neuroblastome, leucémie, lymphome, hépatoblastome, hépatocarcinome, histiocytose langerhansienne			
absence de compression extrinsèque ou d'infiltration des voies biliaires à la cholangioRMN, ponction de moëlle osseuse, frottis sanguin, tomographie à émission de positrons, dosage alphafoetoprotéine normaux			
Endocrinienne: hypopituitarisme (antécédent chez un cousin germain)			
- dosages de la prolactine et des hormones des axes gonadotrope, corticotrope et thyroïdienne normaux - axe gonadotrope: somatomédine C basse à 11µg/L (norme 15-200µg/L) —> un test dynamique au glucagon montre une réponse normale, l'abaissement du taux de somatomédine C est attribué à l'atteinte hépatique			
Erreurs innées du métabolisme			
Mucoviscidose	test à la sueur normal	Maladie de Wilson	dosages ceruloplasmine et cuprémie normaux
Déficit en alpha1 antitrypsine	dosage sérique normal	Tyrosinémie type 1	dosages alphafoetoprotéine et succinylcétone urinaires normaux
Déficit en citrine	acides aminés plasmatiques normaux	Anomalies congénitales de la glycosylation	glycosylation normale de la transferrine
Déficit en transaldolase	polyols urinaires normaux	Maladie de Gaucher	activité enzymatique sur sang séché
LCHAD ou Déficit en 3-hydroxyacyl-coenzyme A déshydrogénase des acides gras à chaîne longue		profil des acylcarnitines plasmatiques, lactate et glycémie du matin, acides organiques urinaires normaux	
Xanthomatose cérébrotendineuse (XTC)	dosage cholestanol légèrement élevé à 31,8µmol/L (norme 2,6-16µmol/L), mais dans les XTC le dosage est souvent plus élevé avec ici absence d'autres arguments : pas d'anomalie au fond d'oeil, pas de diarrhée, ni xanthome, ni atteinte neurologique		
Déficit peroxysomal	dosage des acides gras à très longue chaîne, acide phytanique et pristanique sanguins normaux		
Cholestases hépatocytaires génétiques - Phénotypes			
Syndrome d'Alagille (paucité ductulaire, cardiopathie, anomalie oculaire et squelettique, dysmorphisme facial): échographie cardiaque, fond d'oeil et lampe à fente, radiographie du thorax normaux, absence de faciès typique			
Anomalies de synthèse/conjugaison des acides biliaires primaires: γ -glutamyltransférase (GGT) toujours normales avec absence de prurit, ce qui n'est pas le cas de notre patient			
Anomalies des transporteurs canaliculaires: Cholestase Intra-hépatique Familiale Progressive (PFIC1-2-3): GGT normales sauf dans la Cholestase Intra-hépatique Familiale Progressive type 3 (PFIC3)			
Anomalies de régulation, de trafic et d'adressage des protéines canaliculaires (déficit en FXR, syndrome ARC, déficit en myosine 5b): GGT toujours normales dans ces situations			
Anomalies des jonctions serrées (syndrome NISCH, déficit en TJP2): - syndrome de NISCH généralement en période néonatale, associé à une ichtyose et une cholangite sclérosante - déficit en TJP2, les GGT peuvent être légèrement augmentées, mais pas autant que notre patient et absence d'atteinte pulmonaire ou neurologique			
Génotype: Panel Génétique Cholestases du King's College			
variant non connu à l'état homozygote : nucléotide Guanine au lieu de Thymidine en position c.2065-8T>G du gène ABCB4 codant pour la protéine MDR3			

tionnelle. L'histologie est peu suggestive et donc d'un intérêt marginal⁵. Dans notre cas, étant donné le bon état général de notre patient et l'absence d'urgence diagnostique, nous avons opté pour le panel génétique de cholestase du King's College Hospital centré sur les cholestases génétiques pédiatriques. Le panel génétique, réalisable sur une prise de sang, a plusieurs avantages : il envisage plusieurs diagnostics en une analyse et l'identification d'un variant pathogène permet un diagnostic non invasif ainsi qu'un conseil génétique adapté. L'inconvénient est que le phénotype de tous les variants n'est pas connu avec des difficultés d'interprétation comme dans le cas présent. Les analyses par des logiciels informatiques du variant homozygote identifié dans le gène ABCB4 prédisent une mutation potentiellement pathogène par modification du processus de traduction de l'ARN messager en protéine. Il ne s'agit que d'une probabilité, mais étant donnée la corrélation phénotypique cela renforce le diagnostic hautement probable de PFIC3⁶. Par la suite, 3 autres enfants de cette famille (tableau 1: familles A et B) présenteront le même phénotype-génotype, un immunomarquage de la protéine MDR3 est négatif chez l'un d'entre eux confirmant avec certitude le diagnostic.

Le PFIC3 est caractérisé par une cholestase chronique survenant dans les 2 premières décades de la vie avec une activité sérique de la GGT élevée et des concentrations sériques normales de cholestérol. Les membres atteints de cette famille ont une présentation particulièrement précoce, le diagnostic ayant été posé entre l'âge de 2 mois et 4 ans. L'échographie hépatique est habituellement normale comme chez notre patient, mais peut montrer une vésicule biliaire volumineuse

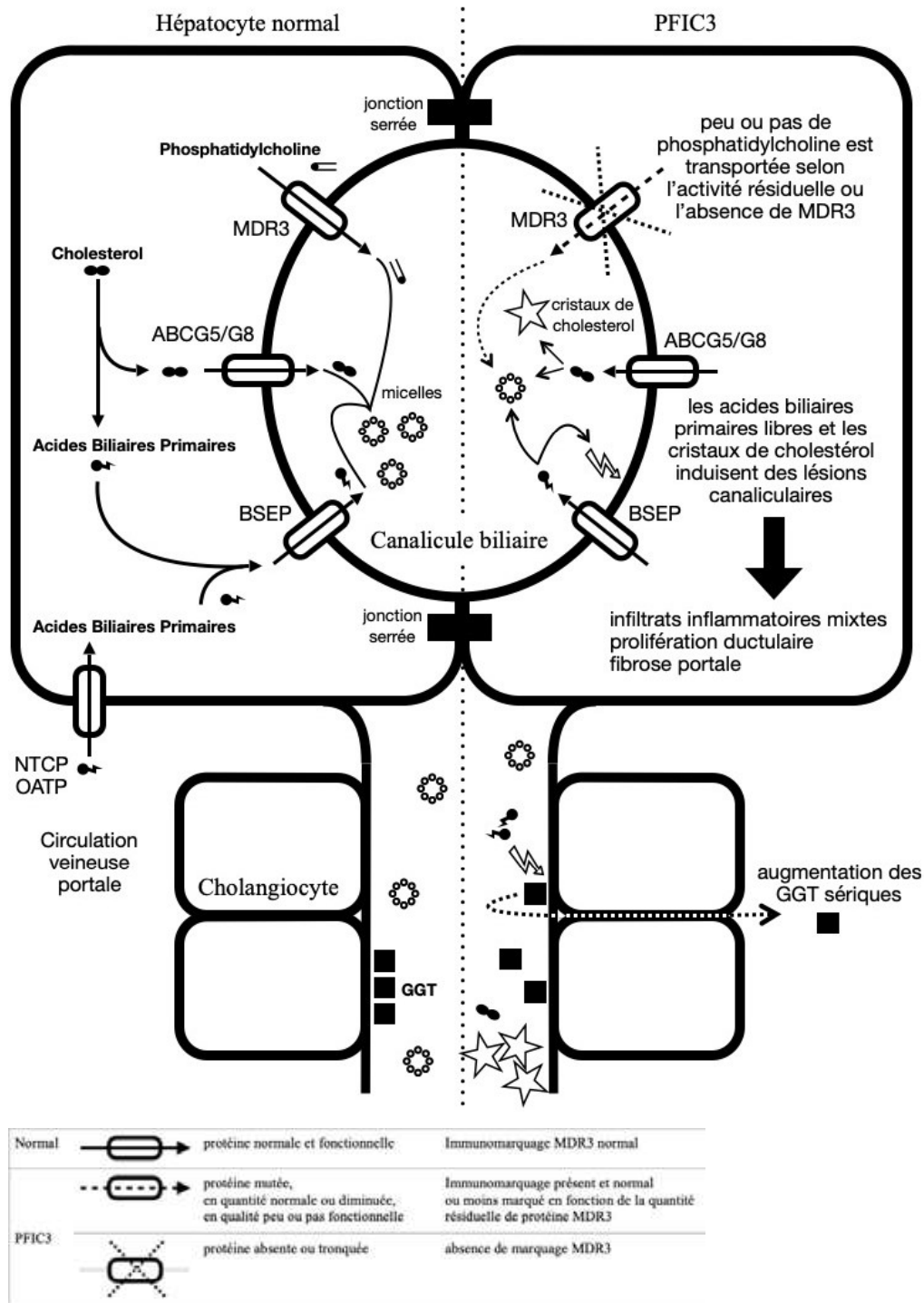
et des calculs biliaires. L'histologie hépatique montre dans les cas typiques une vraie prolifération ductulaire avec un infiltrat inflammatoire mixte, des cristaux de cholestérol, une fibrose portale et à un stade avancé une cirrhose biliaire ou rarement un hépatocarcinome. La physiopathologie est illustrée dans la figure 2^{3,4}.

Les 3 axes de traitement sont les mesures nutritionnelles, l'acide ursodéoxycholique et la transplantation hépatique. Un régime alimentaire avec des triglycérides à chaîne moyenne, une supplémentation en vitamines liposolubles et éviter toute dénutrition sont essentiels⁷. Un traitement par acide ursodéoxycholique est systématiquement recommandé avec une efficacité variable dépendant du degré d'atteinte fonctionnelle enzymatique⁸. Chez notre patient l'acide ursodéoxycholique a permis une légère diminution de la cytolyse hépatique (tableau 1) et une disparition du prurit, mais la progression vers une cirrhose n'a pas pu être prévenue avec l'apparition après 1 année de varices œsophagiennes et d'une splénomégalie. L'évolution vers la cirrhose est particulièrement précoce dans cette famille avec une apparition entre 7 mois et 4 ans indépendamment de la prise d'acide ursodéoxycholique. Le variant homozygote c.2065-8T>G du gène ABCB4 est donc pronostique d'une atteinte sévère et précoce avec une résistance au traitement par acide ursodéoxycholique. Des thérapies ciblées sur la protéine MDR3 en fonction du type d'atteinte fonctionnelle et des thérapies géniques sont à l'étude⁹. Le seul traitement curatif actuellement reste la greffe hépatique, pratiquée dans 50 % des cas de PFIC3, indiquée en cas d'insuffisance hépatique sévère ou d'hépatocarcinome⁸. En attendant la greffe hépatique une dérivation hépato-biliaire n'a pas d'intérêt dans cette forme de PFIC contrairement aux PFIC 1-2¹⁰.

CONCLUSION

Les causes génétiques de cholestase doivent être évoquées devant tout patient ayant une histoire familiale suggestive, une cholestase chronique ou de consanguinité. Le panel génétique de cholestase est un outil qu'il faut alors envisager dès élimination des diagnostics les plus fréquents, permettant le diagnostic de pathologies rares pour lesquelles une thérapie ciblée est parfois disponible. Ce cas illustre l'apport croissant des analyses génétiques et leurs avantages au dépend des biopsies hépatiques dans les cholestases chroniques en pédiatrie. Un nouveau variant pathogène c.2065-8T>G du gène ABCB4 responsable à l'état homozygote d'une forme sévère et précoce de PFIC3 a ainsi été identifié.

Conflits d'intérêt : néant.



PFIC3 : Cholestase Familiale Progressive type 3 ; MDR3 : *Multidrug Resistance Proteine 3* - transporteur de phosphatidylcholine - la protéine MDR3 est codée par le gène ABCB4 ; BSEP : *Bile Salt Export Pomp* - transporteur de sels biliaires primaires ; ABCG5/G8 : *ATP-binding cassette sub-family G member 5 and 8* - transporteur de cholestérol ; NTCP : *Na⁺-taurocholate cotransporting polypeptide* - transporteur d'anions organiques ; OATP : *organic anion-transporting polypeptide* - transporteur d'anions organiques ; GGT : gamma-glutamyltranspeptidase.

BIBLIOGRAPHIE

1. Moyer V, Freese DK, Whittington PF, Olson AD, Brewer F, Colletti RB *et al.* Guideline for the Evaluation of Cholestatic Jaundice in Infants: Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017;64(1):154-68.
2. Fernandes J, Saudubray J-M, Van den Berghe G, Walter JH. *Inborn Metabolic Diseases.* 4^e Edition. Springer Medizin Verlag Heidelberg;2006:17.
3. Sticova E, Jirsa M, Pawłowska J. New Insights in Genetic Cholestasis: From Molecular Mechanisms to Clinical Implications. *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2018;2018:1-12.
4. Jacquemin E. Progressive familial intrahepatic cholestasis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2012;36 Suppl 1:S26-35.
5. Morotti R, Suchy F, Magid M. Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis (PFIC) Type 1, 2, and 3: A Review of the Liver Pathology Findings. *Semin Liver Dis.* 2011;31(01):003-10.
6. Schatz SB, Jüngst C, Keitel-Anselmo V, Kubitz R, Becker C, Gerner P *et al.* Phenotypic spectrum and diagnostic pitfalls of ABCB4 deficiency depending on age of onset. *Hepatol Commun.* 2018;2(5):504-14.
7. Nightingale S, Ng VL. Optimizing Nutritional Management in Children with Chronic Liver Disease. *Pediatr Clin North Am.* 2009;56(5):1161-83.
8. Falguières T, Ait-Slimane T, Housset C, Maurice M. ABCB4: Insights from pathobiology into therapy. *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2014;38(5):557-63.
9. Delaunay JL, Durand-Schneider AM, Dossier C, Falguières T, Gautherot J, Davit-Spraul A *et al.* A functional classification of ABCB4 variations causing progressive familial intrahepatic cholestasis type 3: Autoimmune, Cholestatic and Biliary Disease. *Hepatology.* 2016;63(5):1620-31.
10. Van der Woerd WL, Houwen RH, van de Graaf SF. Current and future therapies for inherited cholestatic liver diseases. *WJG.* 2017;23(5):763.

Travail reçu le 3 juillet 2019 ; accepté dans sa version définitive le 6 mai 2020.

CORRESPONDANCE

G. BONNE
Hôpital Universitaire des Enfants Reine Fabiola
Service de Pédiatrie
Avenue Jean Joseph Crocq 15 - 1020 Bruxelles
E-mail : guillaume.bonne@ulb.be