

UNIVERSITÉ DE LILLE  
**FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année : 2020

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Hyperhomocystéinémies égales ou supérieures à 50  $\mu\text{mol/L}$  : analyse  
descriptive et rétrospective d'une cohorte de 286 patients au CHU de Lille**

Présentée et soutenue publiquement le 28 Septembre 2020 à 18h00  
au Pôle Formation  
par **Lucile VANNESTE**

---

**JURY**

**Président :**

**Madame le Professeur Marie-Christine VANTYGHEM**

**Asseseurs :**

**Monsieur le Professeur Jean-François BENOIST**

**Madame le Docteur Cécile YELNIK (MCU-PH)**

**Madame le Docteur Karine MENTION**

**Madame le Docteur Marie JONCQUEL**

**Directeur de thèse :**

**Madame le Docteur Claire DOUILLARD**

---

## **Avertissement**

**La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci propres à leurs auteurs.**



# ABRÉVIATIONS

Ado-B12 : désoxyadénosylcobalamine

AMM u : Acide Méthylmalonique urinaire

AVC : Accident vasculaire cérébral

BHMT : bétaïne-homocystéine méthyltransférase

CAAp : Chromatographie des acides aminés plasmatiques

Cbl : Cobalamine

CBS : Cystathionine béta-synthase

DFG : Débit de filtration glomérulaire

EP : Embolie pulmonaire

FAV : Fistule artério-veineuse

FDRCV : Facteur de risque cardiovasculaire

FI : Facteur intrinsèque

GIF : Gène codant pour le facteur intrinsèque

HAS : Haute Autorité de Santé

HCY : Homocystéine totale plasmatique

HTA : Hypertension artérielle

HyperHCY : Hyperhomocystéinémie

IMC : Indice de masse corporelle

IRC : Insuffisance Rénale Chronique

MAT : Méthionine adénosyltransférase

Me-B12 : méthylcobalamine

MET : Méthionine

MS : méthionine synthase

MSR : méthionine synthase réductase

MT : Méthyltransférase

MTEV : Maladie thrombo-embolique veineuse

MTHFR : 5,10-Méthylène-tétrahydrofolate réductase

MUT : méthylmalonyl-CoA mutase

N<sub>2</sub>O : Protoxyde d'azote

NO : Monoxyde d'azote

OH : hydroxocobalamine

QI : Quotient intellectuel

SAH : S-adénosylhomocystéine

SAHH : S-adénosylhomocystéine hydrolase

SAM : S-adénosylméthionine

TC : transcobalamine

THF : Tétrahydrofolate

TVC : Thrombose veineuse cérébrale

TVP : Thrombose veineuse profonde

# TABLE DES MATIERES

I.	INTRODUCTION.....	1
A.	Rappels sur le métabolisme de l'homocystéine.....	1
1.	Production de l'homocystéine .....	1
2.	Le cycle de reméthylation (de l'homocystéine en méthionine). .....	3
3.	La voie de transsulfuration. ....	7
B.	Conséquences physiopathologiques des troubles du cycle de l'homocystéine	8
1.	Mécanismes physiopathologiques. ....	9
2.	Etiologies des hyperhomocystéinémies .....	12
C.	Orientation diagnostique.....	27
D.	Traitements .....	28
1.	Déficit en CBS.....	29
2.	Cycle de reméthylation : déficit en MTHFR .....	31
3.	Cycle de reméthylation : déficit en cobalamine. ....	32
4.	Cas particulier de la contraception et de la grossesse en cas d'hyperhomocystéinémie notamment génétique. ....	34
E.	Indications du dosage de l'homocystéine .....	34
1.	Phénotype évocateur d'une hyperhomocystéinémie génétique .....	35
2.	Bilan de thrombophilie.....	35

3.	Recherche d'une carence en vitamine B12.....	36
4.	Evaluation du risque cardiovasculaire ?.....	37
5.	Dépistage néonatal.....	39
II.	OBJECTIFS DE L'ÉTUDE.....	40
III.	MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	41
A.	Etude.....	41
B.	Patients.....	41
C.	Méthode de recueil des données.....	41
D.	Paramètres collectés.....	42
E.	Analyses statistiques.....	48
IV.	RESULTATS.....	51
A.	Description de la population totale.....	51
1.	Population étudiée.....	51
2.	Explorations spécialisées chez les enfants et les adultes.....	53
B.	Population pédiatrique (< 18 ans, n = 23 patients).....	55
1.	Paramètres étudiés.....	55
2.	Etiologies des hyperhomocystéinémies $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ .....	55
C.	Population adulte ( $\geq 18$ ans, n = 263).....	66
1.	Services prescripteurs du dosage d'Homocystéine (HCY) pour lequel la valeur plasmatique est $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ .....	66



2.	Description population adulte globale.....	67
3.	Etiologies identifiées, supposées ou non identifiées des hyperhomocystéinémies $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ au sein de la population adulte.....	70
4.	Indications de dosage de l'homocystéine et étiologies de l'hyperHCY.....	86
V.	DISCUSSION .....	97
	Références bibliographiques .....	110
	Annexe 1 : Métabolisme de la vitamine B12.....	115
	Annexe 2 : Métabolisme intra-cellulaire de la vitamine B12.....	117
	Annexe 3 : Principaux mécanismes des déficits en cobalamines impliqués dans l'hyperhomocystéinémie et leurs gènes.....	119
	Annexe 4 : Facteurs physiologiques et environnementaux impliqués dans une élévation modeste de l'Homocystéine (entre 14 et 50 $\mu\text{mol/L}$ ) : Age, sexe, mode de vie (café, tabac) .....	120
	Annexe 5 : Evaluation de la sensibilité à la vitamine B6 de l'enzyme CBS mutée..	122
	Annexe 6 : Attestation de déclaration d'un traitement informatique.....	123



## RESUME :

**Contexte :** Les hyperhomocystéinémies sont d'origine acquise ou génétique. Notre objectif primaire est d'identifier les étiologies des hyperhomocystéinémies  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$ . Nos objectifs secondaires seront de décrire les phénotypes des patients présentant une hyperhomocystéinémie génétique, d'identifier le contexte clinique ayant conduit au dosage et de comparer chez l'adulte le niveau d'hyperhomocystéinémie chez ceux ayant présenté un évènement thrombotique par rapport à ceux n'en ayant pas présenté.

**Méthode :** Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective. Une extraction nominative des taux d'homocystéine totale plasmatique  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$  a été réalisée du 1<sup>er</sup> janvier 2014 au 31 mars 2020 au sein du CHU de Lille.

**Résultats :** 286 sujets présentent une homocystéine totale plasmatique  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$ , dont 23 enfants et 263 adultes. Chez l'enfant, elles sont d'origine génétique dans la moitié des cas et carencielles dans 23% des cas (vitamine B12 et/ou folates). Chez l'adulte, l'étiologie principalement identifiée est carencielle (45 %). Les autres étiologies identifiées sont : génétiques (3,4 %), secondaire à une insuffisance rénale chronique (25,9 %), d'origine médicamenteuse / toxique (7,6 %). Une étiologie n'a pu être identifiée chez 18 % des patients. Les indications principales de dosage étaient la survenue d'un évènement thrombotique chez 37,7 % des patients, l'exploration de troubles cognitifs ou d'autres troubles neurologiques respectivement chez 15.2 % et 9.2 %. Les hyperhomocystéinémies génétiques diagnostiquées à l'âge adulte sont majoritairement révélées par un évènement thrombotique. Le niveau d'homocystéinémie est plus élevé chez les patients présentant un accident thrombotique (artériel et/ou veineux) par rapport au reste des patients.

**Conclusion :** Quatre grandes étiologies d'hyperhomocystéinémie  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$  ont pu être identifiées, majoritairement d'origine génétique chez l'enfant et carencielle chez l'adulte. Elle reste inexpliquée pour 18% des patients adultes : une collaboration plus étroite entre les équipes médicales, biologiques et spécialisées dans les erreurs innées du métabolisme permettra d'optimiser la démarche diagnostique.

# I. INTRODUCTION

L'hyperhomocystéinémie est une élévation plasmatique d'un acide aminé soufré, l'homocystéine, produit au sein du métabolisme complexe de la méthionine. Elle est définie par un taux d'homocystéine plasmatique au-delà de 14  $\mu\text{mol/L}$  (1). Les étiologies conduisant à une situation d'hyperhomocystéinémie (homocystéine > 14  $\mu\text{mol/L}$ ) sont nombreuses, acquises ou génétiques. Son degré de retentissement a conduit à la définir selon trois niveaux de sévérité en fonction du risque clinique impliqué : hyperhomocystéinémie modérée (entre 14 et 50  $\mu\text{mol/L}$ ), très majoritairement acquises et environnementales, hyperhomocystéinémie intermédiaire (entre 50 et 100  $\mu\text{mol/L}$ ) et sévère ( $\geq 100$   $\mu\text{mol/L}$ ), ces deux dernières pouvant relever de situations acquises ou génétiques.

Notre étude a pour but d'essayer de caractériser la population des 286 patients chez qui un dosage d'homocystéine totale plasmatique a été demandé entre le 1er janvier 2014 et le 31 mars 2020 et pour lequel la valeur est  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$  : les grandes étiologies retenues et le contexte ayant conduit à ce dosage seront analysés. Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective.

## A. RAPPELS SUR LE METABOLISME DE L'HOMOCYSTEINE

### 1. Production de l'homocystéine

L'homocystéine est un acide aminé soufré qui est synthétisé dans tous les tissus à partir d'un autre acide aminé, la méthionine, essentiellement apportée par

l'alimentation mais dont les stocks sont maintenus suffisants grâce au cycle de reméthylation de l'homocystéine en méthionine. L'homocystéine se retrouve ainsi au carrefour de voies métaboliques complexes (Figure 1). Tout d'abord, la méthionine initialement issue de l'alimentation est convertie en homocystéine via plusieurs réactions enzymatiques qui permettront la libération de groupements méthyles indispensables à divers processus de synthèse : la méthionine est transformée d'abord en S-adénosylméthionine (SAM) via la méthionine adénosyltransférase (MAT) I/III ou II, puis en S-adénosylhomocystéine (SAH) via la méthyltransférase (MT) en libérant ainsi un groupement méthyle. A noter que la glycine N-méthyltransférase permet de réguler et limiter tout excès de SAM. La dernière étape assure la transformation du SAH en homocystéine grâce à la S-adénosylhomocystéine hydrolase (SAHH). L'homocystéine va alors soit rentrer dans le processus de reméthylation (paragraphe I.A.2) pour reconstituer le stock en méthionine, soit être métabolisée en cystéine par la voie de transsulfuration (paragraphe I.A.3).

L'homocystéine est très réactif du fait de son groupement thiol (-SH). On la retrouve dans le plasma sous différents statuts : soit une forme réduite minoritaire, il s'agit de l'homocystéine libre (1%), soit sous un statut oxydé avec la formation de ponts disulfures entre les différents acides aminés (disulfides) (30%) ou sous forme liée à des protéines plasmatiques (environ 70%). C'est le dosage plasmatique de l'homocystéine totale (somme de la forme réduite libre et des formes oxydées et liées) qui est recommandé pour le diagnostic et le suivi des hyperhomocystéinémies.

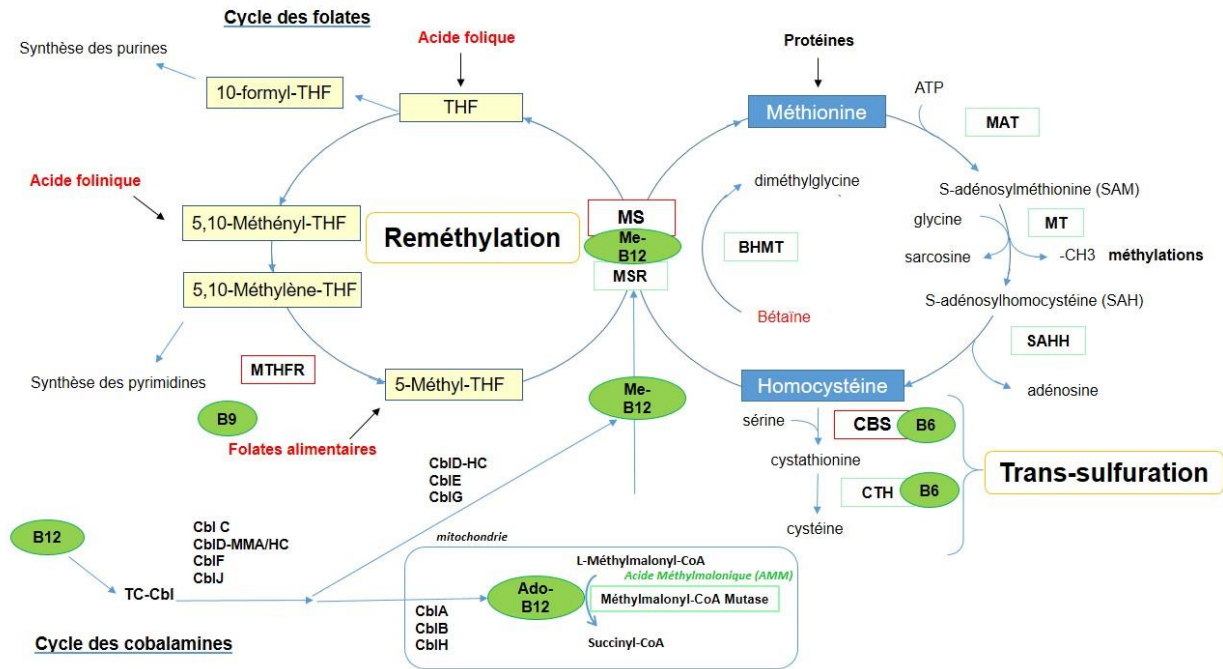


Figure 1. Métabolisme de l'homocystéine

MAT, méthionine adénosyl-transférase I/III ou II; MT, méthyltransférase; SAHH, S-adénosyl-homocystéine hydrolase; CBS, cystathionine béta-synthase; CTH, cystathionine gamma-lyase; BHMT, bétaine-homocystéine méthyl-transférase; MS, méthionine synthase; MSR, méthionine synthase réductase; Cbl, cobalamine; TC-Cbl, cobalamine liée à la transcobalamine; Me-B12, méthylcobalamine; Ado-B12, adénosylcobalamine; THF, tétrahydrofolate; MTHFR, 5,10-méthylène-tétrahydrofolate réductase;

## 2. Le cycle de reméthylation (de l'homocystéine en méthionine).

L'homocystéine est reconvertie en méthionine en acceptant un groupement méthyle qui peut provenir de deux origines : soit par le 5-méthyltétrahydrofolate (5-méthyl-THF), catalysé par la méthionine synthase (MS) en présence du cofacteur méthylcobalamine (Me-B12); soit éventuellement par la bétaine grâce à la bétaine-homocystéine méthyltransférase (BHMT), notamment lorsqu'elle est donnée sous

forme médicamenteuse à visée reméthylante. Cette voie de reméthylation est donc étroitement liée au cycle des folates (vitamine B9) (paragraphe I.A.2.a) et au métabolisme de la vitamine B12 (paragraphe I.A.2.b). On conçoit que toute carence en folates ou en vitamine B12 ou toute anomalie génétique concernant leur métabolisme respectif puisse entraver gravement le cycle de reméthylation : **la conséquence sera une accumulation en homocystéine et un déficit en méthionine, toutes deux néfastes.**

### a) Le cycle des folates et la voie de reméthylation.

La vitamine B9 est une vitamine hydrosoluble présente dans l'alimentation, absorbée au niveau du jéjunum. Elle est transformée en 5-méthyl-tétrahydrofolate (5-Méthyl-THF), dérivé biologiquement actif. Les folates sont stockés principalement au sein du foie et des globules rouges. La forme circulante (forme méthylée) est 20 fois inférieure à la forme érythrocytaire en terme de concentration. L'acide folique de synthèse (donné sous forme médicamenteuse) est réduit en dihydrofolate (DHF) par une folate réductase, puis en tétrahydrofolate (THF) par une dihydrofolate réductase avant d'être biologiquement actif (Figure 1). La vitamine B9 est indispensable pour la synthèse des bases puriques et pyrimidiques (acides nucléiques), et pour la synthèse de certains acides aminés (histidine, glycine, sérine, méthionine, homocystéine).

La reméthylation de l'homocystéine en méthionine par la MS est possible grâce à son cofacteur la Méthylcobalamine (Me-B12) qui libérera son groupement méthyle. La vitamine B12 sera ensuite maintenue à l'état réduit (Me-B12) par la méthionine synthase réductase (MSR) grâce au groupement méthyle provenant du cycle des

folates (via le 5-Méthyl-THF).

**Les déficits génétiques de reméthylation** conduisent à une diminution de l'activité de la méthionine synthase (MS) : soit par mutation du gène de la MS ou de celui de la MSR, soit par déficit de son cofacteur Me-B12 lié à une anomalie du métabolisme de la vitamine B12, soit par insuffisance d'apport du 5-Méthyl-tétrahydrofolate en cas d'anomalie du cycle des folates. **Le déficit en MTHFR** (5,10-méthylènetétrahydrofolate réductase) conduit à un défaut de production de 5-MTHF, donc un défaut de transfert du groupement méthyle vers la cobalamine, entraînant une baisse du cofacteur Me-B12.

### **b) Le métabolisme de la vitamine B12 et la voie de reméthylation.**

La vitamine B12, appelée cobalamine, est une vitamine hydrosoluble, de structure complexe, synthétisée par des micro-organismes et présente dans les aliments d'origine animale. Du fait de sa nature hydrosoluble, la vitamine B12 doit se lier à certaines protéines pour être assimilée, transportée et intégrée dans le métabolisme intra-cellulaire. Le métabolisme de la vitamine B12 est rappelé dans l'Annexe 1.

Chez l'homme, deux enzymes fonctionnent grâce à la vitamine B12 : la méthionine synthase (MS) et la méthylmalonyl-CoA mutase (MUT). Le métabolisme intracellulaire de la cobalamine est un processus complexe comportant successivement plusieurs étapes transformant l'état des cobalamines identifiées par une lettre allant de A à J pour les principales d'entre elles connues à ce jour. Le métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 est détaillé dans l'Annexe 2. **Au niveau cellulaire, la cobalamine est partiellement convertie en méthylcobalamine (Me-B12) au sein du cytoplasme, et en**



### **désoxyadénosylcobalamine (Ado-B12) au sein de la mitochondrie (Figure 1).**

La carence d'apport en vitamine B12, son défaut d'absorption (d'origine acquise génétique), son défaut de transport (transcobalamine) ou encore les déficits du métabolisme intracellulaire des cobalamines vont conduire à un défaut de fonctionnement soit de la Me-B12 et de l'Ado-12, soit de la Me-B12 seule ou de l'Ado-12 seule en fonction de la localisation de l'anomalie (Figure 1). **Les marqueurs biologiques vont alors permettre d'orienter le diagnostic vers certaines étiologies. Les études fonctionnelles enzymatiques ou désormais la biologie moléculaire permettront conduire au diagnostic.** Le déficit en CblC est le plus fréquent des erreurs innées du métabolisme intra-cellulaire des cobalamines. Ce déficit est lié à des mutations du gène *MMACHC* codant pour une protéine cytoplasmique, appelée MMACHC, prenant en charge la cobalamine après sa libération dans le cytoplasme.

Les éléments d'orientation diagnostique sont précisés dans le tableau suivant :

*Tableau 1 : Variations des paramètres métaboliques en fonction de l'anomalie du métabolisme de la vitamine B12.*

	Déficit	Homocystéine	Méthionine	AMM
Carence B12	<b>Me-B12</b>	élevée	basse	présence
Défaut absorption B12	<b>+</b>			
Défaut transport B12	<b>Ado-</b>			
Déficit en Cbl C, CblD-MMA/HC, CblF, CblJ	<b>B12</b>			
Déficit en CblD-HC, CblE, CblG	<b>Me-B12</b>	élevée	basse	absence
Déficit en CblA, CblB, CblH	<b>Ado-</b> <b>B12</b>	normale	normale	présence

Les principaux mécanismes des déficits en cobalamines impliqués dans l'hyperhomocystéinémie, leurs gènes et leurs modes de transmission sont précisés dans l'Annexe 3.

### 3. La voie de transsulfuration.

Celle-ci permet de métaboliser irréversiblement l'homocystéine couplée à la sérine en cystathionine grâce à la cystathionine bêta-synthase (CBS) dont le pyridoxal 5'-phosphate (issu de la vitamine B6 (pyridoxine)) est le cofacteur (Figure 1). La cystathionine sera alors dégradée en cystéine via la cystathionine gamma-lyase

(CTH) en libérant du 2-oxobutyrate. La cystéine par la suite sera à son tour transformée en taurine et anion sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ).

## **B. CONSEQUENCES PHYSIOPATHOLOGIQUES DES TROUBLES DU CYCLE DE L'HOMOCYSTEINE**

A partir de quel seuil l'hyperhomocystéinémie est-elle délétère ?

Il est difficile de répondre parfaitement à cette question. Un phénotype particulier (anomalie squelettique, ophtalmologique, trouble de l'apprentissage...) ou des manifestations chroniques (neurologiques, vasculaires, hématologiques) ou encore un accident thrombotique inaugural peuvent être révélateurs de la pathologie. Il apparaît que le lien entre l'hyperhomocystéinémie et une expression clinique commence probablement à partir de 50  $\mu\text{mol/L}$ . Le degré de sévérité de l'hyperhomocystéinémie est surtout en fait défini en raison de son risque thrombotique qui apparaît à partir de 50  $\mu\text{mol/L}$  et qui devient surtout significatif à partir de 100  $\mu\text{mol/L}$  (2), (3), (4). Ces seuils ont été proposés après observation des évènements cliniques thrombotiques chez les sujets atteints d'une hyperhomocystéinémie génétique. Ils permettent de guider le traitement : par exemple, chez les sujets atteints d'un déficit en cystathionine béta-synthase (CBS), il est actuellement recommandé d'optimiser le traitement afin d'obtenir des concentrations d'homocystéine en dessous de 50  $\mu\text{mol/L}$  en cas de forme sensible à la vitamine B6, et en dessous de 100  $\mu\text{mol/L}$  en cas de forme non-B6-sensible, plus difficile à traiter (2).

C'est donc en raison d'un spectre clinique large, en grande partie lié avec le degré de sévérité biologique de l'hyperhomocystéinémie, qu'on différencie les hyperhomocystéinémies modérées (entre 14 et 50  $\mu\text{mol/L}$ ) de celles intermédiaires (entre 50 et 100  $\mu\text{mol/L}$ ) ou sévères ( $\geq 100 \mu\text{mol/L}$ ). Initialement dans la littérature, le seuil de 30  $\mu\text{mol/L}$  (à la place de celui de 50) était proposé mais au fil des descriptions cliniques, les experts en métabolisme de l'homocystéine retiennent que c'est essentiellement à partir de 50  $\mu\text{mol/L}$  que l'hyperhomocystéinémie intermédiaire, potentiellement symptomatique, commence.

## **1. Mécanismes physiopathologiques.**

Plusieurs mécanismes physiopathologiques sont évoqués pour expliquer le phénotype des patients présentant une hyperhomocystéinémie.

En cas d'élévation de l'homocystéine, l'importance des liaisons disulfures entre certaines protéines dont l'élastine entraîne une dysfonction au sein de certains tissus, favorisant par exemple la luxation du cristallin ou les anomalies squelettiques dans les déficits en CBS. (2). Dans le déficit en CBS, l'accumulation d'homocystéine, et plus en amont du SAH, favorise la formation de méthionine au détriment des autres réactions de méthylation. En aval, il existe un déficit en cystéine, utile pour la formation de glutathion qui joue un rôle anti-oxydant primordial. Ce déficit favorise donc le stress oxydatif causant divers dommages (protéiques, cellulaires...). Concernant les mécanismes physiopathologiques des troubles de la reméthylation, plusieurs hypothèses sont proposées : l'altération de fonctionnement de la MS va entraîner une accumulation intracellulaire du 5-MTHF (piège à folates) pouvant être

responsable d'un défaut de synthèse des nucléotides par exemple; dans le déficit en MTHFR, il y a un déficit en 5-méthylTHF qui pourrait participer aux troubles neurologiques centraux par baisse de certains métabolites au niveau du LCR (5) ; enfin, d'une manière plus générale, l'altération des réactions de méthylation au sein de nombreux métabolismes notamment de la myéline, de l'ADN et des tissus, participe aux troubles hématologiques, neurologiques, vasculaires...

### **Physiopathologie de l'atteinte vasculaire**

Les mécanismes physiopathologiques à l'origine des épisodes thrombotiques des hyperhomocystéinémies intermédiaires à sévères restent incomplètement élucidés. Une atteinte du contenant (atteinte de la paroi) et du contenu y contribuerait.

L'élévation de l'homocystéine plasmatique est à l'origine d'une dysfonction endothéliale favorisant la survenue de phénomène thrombo-embolique. Sur le plan macroscopique, on observe des lésions focales de fibrose vasculaire, affectant les artères de tous calibres. Il est noté un épaississement de la média et de l'intima, une fragmentation de la membrane élastique interne et un rétrécissement de la lumière artérielle (6). Ces lésions diffèrent de celles observées dans l'athérosclérose liée à l'hypercholestérolémie par l'absence de noyau lipidique au sein de la chape fibreuse. Le *primum movens* serait une altération de l'endothélium avec une desquamation des cellules endothéliales lésées mettant à nu le tissu sous-endothélial et activant ainsi la thrombogenèse (7).

L'homocystéine en elle-même exercerait un effet toxique sur l'endothélium via la génération d'un stress oxydant. En effet, les groupements thiols contenus au sein

des molécules d'homocystéine s'auto-oxydent, comme par exemple la dimérisation de l'homocystéine en homocystine, libérant des espèces réactives de l'oxygène (peroxyde d'oxygène ( $H_2O_2$ ), radical hydroxyl ( $OH^-$ ), anion superoxyde ( $O_2^-$ )). Ces espèces réactives de l'oxygène induisent des dommages au sein des cellules endothéliales (8), une peroxydation des lipides (entre autre les lipoprotéines LDL) ainsi que des protéines membranaires altérant alors la fluidité de la membrane cellulaire (9). Il semble y avoir également une altération des défenses antioxydantes en lien avec une diminution des groupements thiols disponibles et de l'activité de la glutathion peroxydase (10), (11).

Plusieurs études réalisées chez l'homme ont également montré une altération de la vasodilatation endothélium-dépendante en cas d'hyperhomocystéinémie sévère (12), ou chronique (13) ou même induite par un régime chez des sujets sains (14). Ce mécanisme de vasodilatation est médié principalement par la libération de monoxyde d'azote (NO) sécrété par les cellules endothéliales. Il s'avère qu'il existe une diminution de la biodisponibilité du NO dans l'hyperhomocystéinémie (15), le NO ayant également un effet anti-agrégant plaquettaire. L'endothélium semble perdre son potentiel fibrinolytique. Tofler et al. montre une élévation de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1) dans le plasma de sujets présentant une hyperhomocystéinémie (16), suggérant une diminution de la dégradation des caillots de fibrine par la plasmine.

De manière inconstante, il est retrouvé une modification de l'activité de certains facteurs de la coagulation, tels que le facteur VIII, le facteur von Willebrand, et l'antithrombine III, dans le plasma de patients présentant une hyperhomocystéinémie (17).

## 2. Etiologies des hyperhomocystéinémies

Une hyperhomocystéinémie modérée (< 50  $\mu\text{mol/L}$ ) est fréquente et relève de causes acquises tandis que les hyperhomocystéinémies intermédiaires (entre 50 et 100  $\mu\text{mol/L}$ ) et sévères (> 100  $\mu\text{mol/L}$ ), peuvent relever de causes acquises ou génétiques correspondant alors à des « maladies héréditaires du métabolisme » (Figure 2).

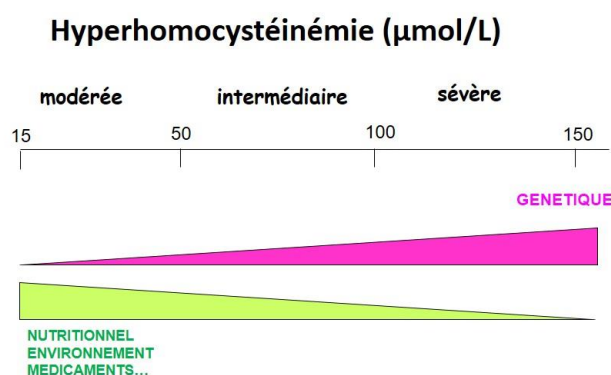


Figure 2 : Prévalence étiologique de l'hyperhomocystéinémie selon le niveau de sévérité.

### a) Hyperhomocystéinémies acquises

Les causes acquises d'hyperhomocystéinémie sont nombreuses et diverses (Tableau 2) (adapté C. Douillard and I. Redonnet-Vernhet (18); Refsum et al., 2004a (19)). Le taux d'homocystéine plasmatique est influencé par des facteurs physiologiques, environnementaux, par certaines pathologies ou encore des médicaments.

Les facteurs physiologiques et environnementaux (âge, sexe, mode de vie (café, tabac)) sont impliqués dans une élévation modeste de l'homocystéine (entre 14 et 50  $\mu\text{mol/L}$ ) : ces aspects sont précisés en Annexe 4 (figures 1 et 2).

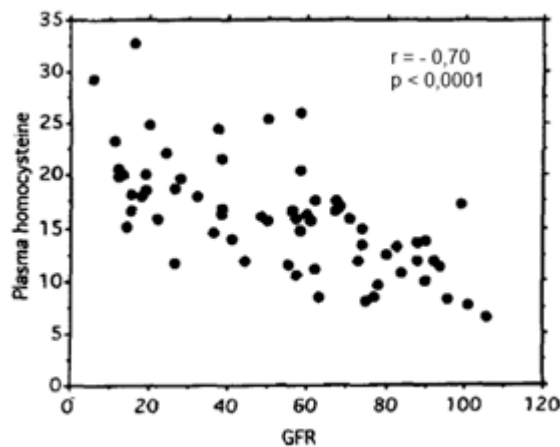


Tableau 2. Etiologies des hyperhomocystéinémies acquises

Niveau d'hyperhomocystéinémie	Etiologies
MODERE (14 - 50 $\mu\text{mol/L}$ )	<b>Nutritionnelles / Mode de vie</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carences en B6, B9, B12</li> <li>• Tabagisme</li> <li>• Ethylisme chronique</li> <li>• Consommation excessive de café (&gt; 4 tasses/jour)</li> </ul>
	<b>Pathologies</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insuffisance rénale</li> <li>• Hypothyroïdie</li> <li>• Lupus, psoriasis</li> <li>• Diabète</li> <li>• Cancers, hémopathies</li> </ul>
	<b>Médicamenteuses</b>
	<b>(interférences avec le métabolisme des vitamines)</b>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Antiépileptiques, méthotrexate, triméthoprim... (vitamine B9)</li> <li>• Metformine, IPP, monoxyde d'azote... (vitamine B12)</li> <li>• Isoniazide, théophylline... (vitamine B6)</li> <li>• L-Dopa, ciclosporine, fibrates, diurétiques...</li> </ul>
<b>INTERMEDIAIRE (50 - 100 <math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carence modérée et sévère en B9 et/ou B12</li> <li>• Insuffisance rénale</li> </ul>
<b>SEVERE (&gt; 100 <math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carence sévère en B12 (surtout) et/ou en B9</li> <li>• Insuffisance rénale</li> </ul>

Concernant les situations pathologiques ou médicamenteuses, voici deux exemples d'hyperhomocystéinémies acquises pouvant conduire à une hyperhomocystéinémie modérée ou  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  :

1) L'insuffisance rénale : l'homocystéinémie est inversement corrélée au DFG et augmente significativement en dessous de  $60 \text{ ml/min}$  (HCY moyenne à  $16,4 \pm 4,7 \mu\text{mol/L}$  pour des DFG entre  $36$  et  $63 \text{ ml/min}$  versus  $12,2 \pm 3,3 \mu\text{mol/L}$  entre  $67$  et  $106 \text{ ml/min}$ ,  $p < 0,01$ ). Pour les insuffisances rénales plus sévères (stade 4 ; DFG  $< 30 \text{ ml/min}$  ou stade 5 ; DFG  $< 15 \text{ ml/min}$ ) les taux d'homocystéines s'élèvent volontiers au-delà de  $50 \mu\text{mol/L}$ .



*Figure 3 : Relation entre l'homocystéinémie plasmatique et le taux de filtration glomérulaire (DFG). Issue de Arnadottir et al., 1996 (20).*

2) Effet des thérapeutiques : l'exemple du métabolisme de la L-Dopa chez le patient parkinsonien.

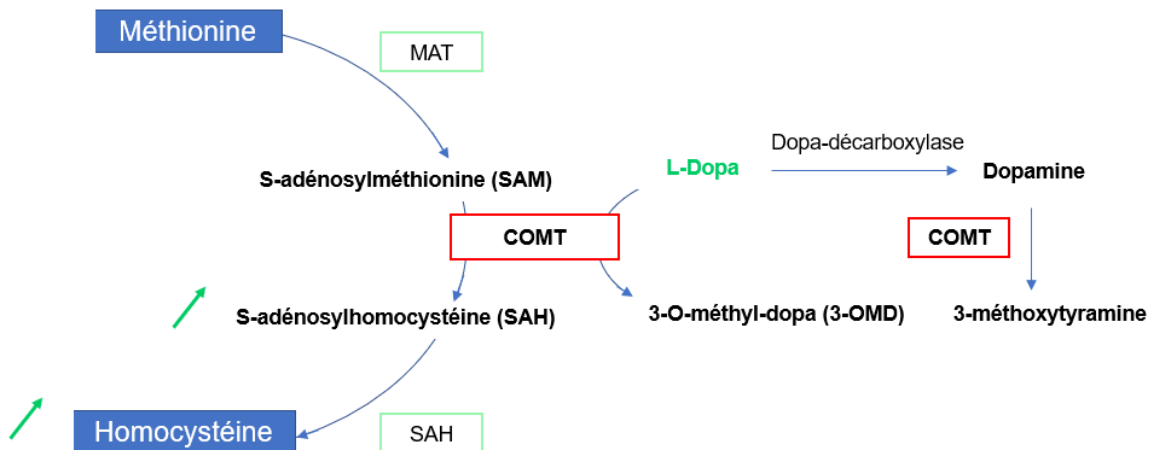


Figure 4 : Métabolisme de la L-Dopa et son effet sur l'homocystéine

La L-Dopa, précurseur de la dopamine, est le médicament le plus fréquemment utilisé dans la maladie de Parkinson, en permettant de compenser la carence en dopamine naturelle. La L-Dopa est rapidement transformée en dopamine sous l'action de la dopa-décarboxylase. La L-Dopa et la dopamine sont dégradées par la catéchol-O-méthyltransférase (COMT) en 3-O-méthyl-dopa (3-OMD) et en 3-méthoxytyramine respectivement. Cette dernière réaction correspond à une réaction de méthylation dans laquelle le groupement méthyle est fourni par la S-adenosylméthionine (SAM). Il existe ainsi une production accrue de S-adenosylhomocystéine (SAH) rapidement convertie en homocystéine (21).

### b) Hyperhomocystéinémies génétiques.

L'élévation de l'homocystéine est souvent sévère  $\geq 100 \mu\text{mol/L}$  et même volontiers  $\geq 150 \mu\text{mol/L}$ .

**Le déficit en cystathionine bêta-synthase (CBS)** est la cause génétique la plus fréquente d'hyperhomocystéinémie (**environ 80 % des cas**) et affecte la voie de la transsulfuration au sein du cycle métabolique de l'homocystéine (cf paragraphe I.A.3).

- Le déficit en 5,10-méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR) (15 % des cas) altère la voie de reméthylation (cf paragraphe I.A.2).
- Les troubles du métabolisme intracellulaire des cobalamines (5 % des cas) altèrent la voie de reméthylation (cf paragraphe I.A.2), pour les déficits les plus connus : Cbl C, D-MMA/HC, F, J, D-HC, E et G.
- Les maladies génétiques entravant l'apport de la vitamine B12 ou de la vitamine B9 sont très rares mais sont également à l'origine d'une hyperhomocystéinémie :
  - **Trouble de l'absorption de la vitamine B12** (déficit héréditaire en facteur intrinsèque et maladie d'Imerslund-Gräsbeck) ou anomalie de son transport (déficit en transcobalamine) (22).
  - **Trouble de l'absorption de la vitamine B9** : déficit héréditaire du transporteur PCFT (Proton-coupled folate transporter) ou du transporteur RFC (Reduced folate carrier) ou FR $\alpha$  (Folate-receptor- $\alpha$ ) (23).

Nous ne détaillerons dans ce travail que les formes génétiques les plus classiques.

### *(1) Le déficit en CBS. (OMIM 236200)*

**Le déficit en CBS correspond à l'homocystinurie classique.** Il entraîne une élévation de l'homocystéine et une élévation de la méthionine (Figure 1). On distingue deux formes selon la réponse observée lors du traitement d'épreuve par la vitamine B6 (pyridoxine), cofacteur de la CBS : **une forme dite B6-sensible et une forme non-B6-sensible.** L'incidence exacte au sein de la population mondiale est difficile à déterminer et souvent sous-estimée. Il existe des régions à prévalence élevée du fait d'un taux de consanguinité important comme au Qatar avec une

incidence qui peut atteindre 1/1800. La prévalence de la forme classique à la naissance est estimée à 1 sur 150 000 en Allemagne, 1 sur 65 000 en Irlande (pays où le dépistage à la naissance est organisé de manière systématique).

L'enzyme CBS est codée par le gène *CBS* situé sur le chromosome 21q22.3 et comporte 23 exons. Elle est exprimée préférentiellement dans le foie, le pancréas, le rein et le cerveau. A ce jour, plus de 160 mutations sont connues pour entraîner une hyperhomocystéinémie, mutations faux-sens le plus souvent. Les plus fréquentes sont la mutation p.Ile78Thr, largement répandue en Europe, induisant une forme B6-sensible, et la mutation p.Gly307Ser, responsable d'une forme non-B6-sensible, retrouvée essentiellement dans les populations celtiques (notamment irlandaises, 71% des mutations). Au Qatar, la mutation p.Arg336Cys est présente dans 93% des cas (OMIM.NIH.gov). Pour les patients hétérozygotes composites, la corrélation génotype/phénotype est plus difficile à établir.

Il existe un large spectre de présentations et de sévérités.

- **les patients présentant une forme B6-sensible** ont une atteinte moins sévère et de révélation plus tardive (2). Certains patients peuvent même rester asymptomatiques tout le long de leur vie (notamment les sujets homozygotes pour la mutation p.I278T). Le diagnostic est le plus souvent porté devant des événements thrombotiques de gravité variable, avec parfois un antécédent de luxation du cristallin. Le quotient intellectuel (QI) est le plus souvent normal dans ces formes B6-sensibles.
- **la forme B6-non-sensible** s'exprime plus précocement et plus sévèrement dans ses manifestations. Le diagnostic est alors porté lors de l'enfance ou de

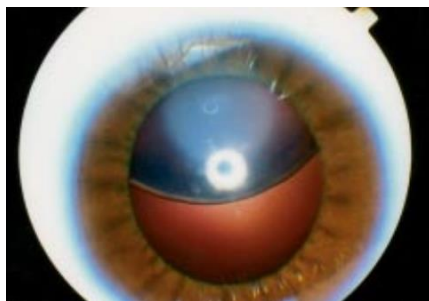
l'adolescence. Le phénotype classique associe : un retard des acquisitions, une épilepsie, des troubles du comportements, un syndrome marfanoïde, des anomalies ophtalmologiques et orthopédiques (Tableau 3).

Les troubles psychiatriques sont fréquents, apparaissant le plus souvent à l'adolescence (troubles de la personnalité, syndrome anxio-dépressif, épisodes psychotiques...). On note parfois un syndrome extra-pyramidal marqué par une dystonie. D'un point de vue ophtalmologique, c'est surtout la luxation du cristallin qui est la manifestation la plus fréquente, quasi pathognomonique du diagnostic dans l'enfance ou l'adolescence, souvent à l'origine de la découverte de la maladie. Quatre-vingt-cinq pourcents des patients présentant une forme résistante à la B6 présentent une luxation du cristallin dans les 12 premières années d'évolution de la maladie (*Figure 4*). La myopie est également classique. L'ostéoporose précoce est une complication fréquente de l'homocystinurie exposant au risque de fracture. Dans une cohorte historique de sujets présentant une forme B6-non-sensible non traités, 70% développaient une ostéoporose vertébrale (24). Les complications vasculaires sont responsables d'une comorbidité importante et d'une mortalité prématurée. Un diagnostic précoce, ainsi qu'un équilibre métabolique optimal grâce au traitement, permet de prévenir ou d'atténuer ces complications (Tableau 3).

**Il s'agira donc de tester rapidement la sensibilité à la vitamine B6**, quel que soit l'âge de diagnostic de l'hyperhomocystéinémie. La procédure est simple et consiste à administrer 10 mg/kg/j de pyridoxine (max 500 mg/j) pour une durée de 6 semaines (Annexe 5).

Tableau 3. Présentations cliniques du déficit en CBS.

Organes	Complications	Dépistage / suivi
<b>Atteintes ophtalmologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Myopie</li> <li>- Luxation du cristallin</li> <li>- Décollement de la rétine</li> <li>- Glaucome</li> </ul>	Consultation ophtalmologique annuelle
<b>Atteintes squelettiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Aspect Marfanoïde (grande taille et envergure, dolichosténomélie, arachnodactylie)</li> <li>- Pectus excavatum ou carinatum, genu valgum, cypho-scoliose...</li> <li>- Ostéoporose prématurée</li> </ul>	Ostéodensitométrie tous les 3-5 ans dès l'adolescence ± bilan phosphocalcique
<b>Atteintes neurologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Epilepsie</li> <li>- Dystonie</li> <li>- Complications psychologiques et psychiatriques (troubles obsessionnels et compulsifs, dépression, psychose, troubles de la personnalité...)</li> <li>- Déficit intellectuel</li> </ul>	Examen clinique QI durant l'enfance IRM / EEG : si symptômes
<b>Atteintes vasculaires</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evènements thrombo-emboliques artériels ou veineux affectant tous les vaisseaux (TVP, EP, AVC, thrombose veineuse cérébrale, thrombose périphérique...)</li> </ul>	Recherche annuelle des facteurs de risque cardio-vasculaires chez l'adulte : mesure la pression artérielle, IMC, bilan lipidique, glycémie à jeun...



*Figure 5 Ectopie cristalliniennne supérieure après dilatation  
D'après Rais et al., 2003 (25)*

## **(2) Déficit en MTHFR et troubles du métabolisme intra-cellulaire des cobalamines (Cbl C, D-MMA/HC, F, J, D-HC, E et G).**

L'élévation de l'homocystéinémie est associée à une baisse de la méthionine du fait d'une altération du cycle de la reméthylation. **Ces maladies sont responsables d'une diminution de l'activité de la méthionine synthase (MS)**, soit par atteinte génétique de l'enzyme en elle-même (MS) ou de son coenzyme, la méthionine synthase réductase (MSR) (très rares), **soit par déficit de son cofacteur, la Me-B12 (défaut d'absorption ou de transport de la cobalamine, déficit d'une étape intracellulaire du métabolisme des cobalamines (Cbl C, D-MMA/HC, F, J, Cbl D-HC, E, G) ou enfin défaut de son substrat le méthyl-tétrahydrofolate (MTHF) du fait d'un déficit en MTHFR (Figure 1).**

Vous trouverez le rappel des voies métaboliques au paragraphe I.A. (Figure 1).

### **(a) Déficit en MTHFR**

Le déficit en MTHFR est une pathologie autosomique récessive liée à des mutations du gène *MTHFR*, de localisation chromosomique 1p36.22 (OMIM : 607093). Il s'agit



de mutations privées dont la localisation n'est pas classiquement corrélée au phénotype. La mise en évidence d'une mutation de *MTHFR* est à interpréter avec prudence du fait du polymorphisme important de ce gène. Le phénotype est variable, essentiellement neurologique, avec parfois dès les premiers mois de vie un tableau sévère (encéphalopathie, difficultés alimentaires, hypotonie, apnée...). L'évolution neurologique (système nerveux central cérébral et médullaire, neurosensoriel, neuropsychiatrique...) peut se stabiliser mais persiste à l'âge adulte : épilepsie, retard mental et psychomoteur, neuropathie périphérique...L'IRM cérébrale révèle le plus souvent un aspect de leucodystrophie. Les anomalies hématologiques sont habituellement rares (absence de macrocytose en l'absence de carence en folates ou en vitamine B12) (Tableau 4).

*Tableau 4 : Présentations cliniques du déficit en MTHFR*

<b>Signes cliniques</b>	<b>Petite enfance</b>	<b>Enfance - Adolescence</b>	<b>Adultes</b>
<b>Neurologiques</b>	Hypotonie Difficultés alimentaires Encéphalopathie Apnée Microcéphalie	Epilepsie Retard mental	Trouble de la marche Spasticité (atteinte médullaire) Altérations cognitives Troubles du comportement  Troubles psychiatriques
<b>Evènements thrombo-emboliques</b>	Artériels ou veineux		
<b>Hématologiques</b>	Rares – anémie mégalo-blastique		

**(b) Les déficits héréditaires du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 (Cbl C, D-MMA/HC, F, J, Cbl D-HC, E, G).**

Dans le cadre des déficits en cobalamine, on note de nombreux points de similitude entre eux, mais avec des atteintes plus diverses dans le cadre du déficit en cobalamine C (CblC). Sa description est plus détaillée dans la littérature du fait de son caractère plus fréquent comparé aux autres déficits en cobalamine.

Dans le déficit en CblC, l'atteinte neurologique est au premier plan, assez proche des déficits en MTHFR, mais associée à des anomalies hématologiques et/ou des signes rénaux. Les manifestations cliniques sont variables, avec une forme néonatale sévère, la plus fréquente, se manifestant par : des difficultés à téter, une hypotonie, un retard psychomoteur, des crises d'épilepsie, une microcéphalie (atteinte du développement fœtal), une atteinte ophtalmologique (atrophie optique, rétinopathie), une anémie mégalo-blastique (et/ou neutropénie voire pancytopenie), un syndrome hémolytique et urémique, des événements thrombotiques. La forme plus tardive, conduisant à poser le diagnostic à l'adolescence ou à l'âge adulte, peut se révéler par une démence progressive (leucodystrophie à l'IRM cérébrale), des troubles psychiatriques, une ataxie, une atteinte médullaire, une atteinte ophtalmologique (atrophie optique, rétinopathie), des événements thrombotiques, une glomérulopathie... Les signes hématologiques (anémie macrocytaire, thrombopénie...) sont moins fréquents dans les formes tardives (Tableau 5). L'IRM cérébrale révèle la mise en place d'un traitement adapté, le plus précocement possible, permet pour la plupart des patients, une amélioration clinique et biochimique avec une réduction des complications, notamment thrombo-emboliques (26).

Tableau 5 : Présentation clinique du déficit en Cb1C.

Signes Cliniques	Forme néonatale	Enfance	Adolescence Adultes
<b>Neurologiques</b>	Hypotonie Difficultés alimentaires Apnée Microcéphalie Epilepsie Hydrocéphalie	Retard de croissance Retard mental Troubles du comportement / de la personnalité  Epilepsie Spasticité Paresthésies Faiblesse musculaire	Démence Troubles psychiatriques Troubles du comportement du Ataxie Encéphalopathie aiguë Spasticité Paresthésies Faiblesse musculaire
<b>Hématologiques</b>	Anémie mégaloblastique Thrombopénie Pancytopénie	Idem	Idem mais plus rares
<b>Rénales</b>	Syndrome hémolytique et urémique	Idem	Idem mais parfois forme plus fruste
<b>Ophthalmologiques</b>	Nystagmus Rétinopathie Atrophie optique	Nystagmus Rétinopathie Atrophie optique	Idem
<b>Evènements thrombo-emboliques</b>	-	Thrombose veineuse (en particulier cérébrale)	Idem

(c) **Les déficits héréditaires de l'absorption et du transport de la vitamine B12.**

**Le déficit héréditaire du facteur intrinsèque** (FI, codé par le gène *GIF*, OMIM 609342) est rare et de transmission autosomique récessive. La plupart des mutations du gène *GIF* conduisent à une perte de fonction. On note alors un défaut de sécrétion du FI. Il n'y a pas d'auto-anticorps anti-FI et de gastrite atrophique contrairement à la maladie de Biermer.

**La maladie d'Imerslund-Gräsbeck** est une maladie rare, récessive, responsable d'un défaut d'absorption de la vitamine B12 au sein de l'iléon. Elle est liée à des mutations du gène de la cubiline (*CUBN*, OMIM 602997) ou de l'amnionless (*AMN*, OMIM 605799), affectant alors la liaison du complexe FI-vitamine B12 au récepteur Cubam.

**Le déficit héréditaire en transcobalamine** (TC, gène *TCN2*, OMIM 613441) conduit à une déplétion cellulaire en cobalamine par défaut d'endocytose. Les taux plasmatiques en cobalamine peuvent être normaux, la plus grande partie de la cobalamine circulante étant liée à l'haptocorrine. On note alors des signes dès la petite enfance, associant un retard staturo-pondéral, des troubles hématologiques (anémie, thrombopénie) et parfois des retards psychomoteurs et cognitifs. Des mutations au sein du gène *CD320* (OMIM 606475) codant pour le récepteur de la TC (TCbIR) ont également été identifiées.

Tableau 6 : Variations des paramètres biologiques selon les déficits héréditaires du métabolisme de l'homocystéine.

	Homocystéine	Méthionine	AMM	Anémie mégaloblastique
Déficit en CBS	↗	↗	∅	∅
Déficit en MTHFR	↗	↘	∅	rare
Déficit en Cbl E, G et D-HC	↗	↘	∅	présence
Déficit en Cbl C, D-MMA/HC, F et J	↗	↘	↗	présence
Déficits de l'absorption et du transport de la B12	↗	N ou ↘	↗	présence

#### (d) « Les variants MTHFR »

Comme nous l'avons vu précédemment, il existe un important polymorphisme du gène MTHFR. Les patients homozygotes pour le polymorphisme c.677C>T (p.Ala222Val), appelé également variant thermolabile C677T, ont une diminution de l'activité enzymatique de MTHFR d'environ 35%. Cela concernerait 10 à 30 % de la population générale (27). L'élévation de l'homocystéine chez les individus homozygotes pour ce variant, ne s'observe classiquement qu'en cas ou surtout en cas de carence en folates. D'autres variants du gène MTHFR ont également été identifiés, comme le variant c.1298A>C (p.Glu429Ala) présent dans environ 30 % de la population (28). Le statut d'homozygotie pour l'un de ces deux variants sus-décrits ou le statut d'hétérozygotie composite combinant la présence de ces deux variants est responsable d'une diminution de l'activité enzymatique de MTHFR d'environ

35%. A l'heure où les hyperhomocystéinémies modestes (< 30 µmol/L) avaient été considérées comme un facteur de risque cardiovasculaire, ce polymorphisme a été recherché de manière systématique chez certains patients avec complications macrovasculaires (infarctus du myocarde par exemple) ou lors d'un bilan de thrombophilie, parfois même sans notion ni même dosage d'homocystéinémie : il avait été alors considéré comme potentiel marqueur d'un facteur de risque vasculaire à lui seul. Depuis, plusieurs études n'ont pas confirmé que ces hyperhomocystéinémies modérées représentaient un risque vasculaire et il n'est pas recommandé de rechercher ce polymorphisme comme marqueur de risque cardiovasculaire. Cependant, sa mise en évidence peut permettre parfois « d'expliquer » une hyperhomocystéinémie modérée voire intermédiaire, notamment en cas de carence en folates. Sa présence peut justifier pour certains praticiens une vigilance pour éviter toute situation de carence en B9 (et B12).

### **C. ORIENTATION DIAGNOSTIQUE**

En ce qui concerne le bilan des hyperhomocystéinémies intermédiaires à sévères, il convient en priorité de dépister une carence vitaminique en B9 et B12 et de vérifier l'existence d'une autre étiologie évidente telle que l'insuffisance rénale. On tiendra compte également du contexte éventuel favorisant les hyperhomocystéinémies mais qui classiquement restent modérées (statut thyroïdien, statut en B6, alcool, tabac, café en excès, pathologies sous-jacentes (Tableau 2)).

En dehors d'un contexte évident, notamment carenciel, une origine génétique sera

suspectée devant toute hyperhomocystéinémie sévère ( $\geq 100 \mu\text{mol/L}$ ) et le bilan biologique métabolique permettra d'orienter le diagnostic : chromatographie des acides aminés plasmatiques (surtout pour la méthionine), chromatographie des acides organiques urinaires (taux d'AMM).

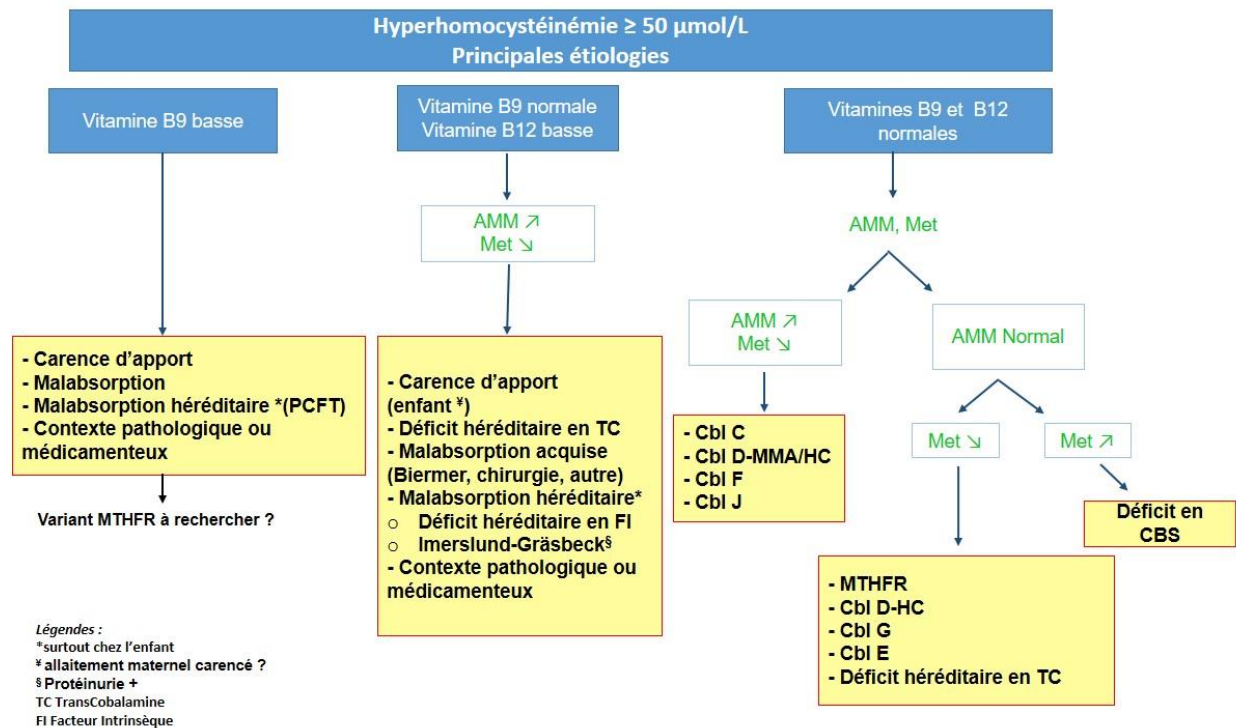


Figure 6 : Orientation diagnostique devant une élévation  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  d'homocystéinémie.

## D. TRAITEMENTS

L'objectif du traitement est si possible de normaliser, et en tout cas de baisser l'homocystéinémie en-deçà du seuil présumé des complications thrombotiques ( $< 50 \mu\text{mol/L}$ ), et de limiter le retentissement neurologique des grandes

hyperhomocystéinémies.

En cas d'hyperhomocystéinémie d'origine carencielle, le traitement étiologique associé à une supplémentation avec une voie d'administration adaptée suffira à normaliser l'homocystéine. Pour les autres étiologies et en particulier génétique, le traitement conduira soit à quasi normaliser l'homocystéine dans le cas des homocystinuries-B6-sensibles (CBS-B6-sensibles), soit à baisser l'homocystéinémie plus ou moins facilement en fonction du type d'anomalie enzymatique. Des moyens nutritionnels et médicamenteux sont alors nécessaires. Il va de soi que le tabagisme est à proscrire et que les autres facteurs de risques vasculaires doivent être maîtrisés.

## 1. Déficit en CBS

Il s'agit avant tout de définir la sensibilité du patient à la vitamine B6 (cf paragraphe I.C.2.b et Annexe 5).

- **Forme B6-sensible :**

Le traitement sera très simple puisque consistera à prendre une dose journalière de **pyridoxine**, sans autre forme de contrainte. La posologie sera poursuivie à la dose minimale qui permettra le bon contrôle métabolique (homocystéine < 50 µmol/L). On évite désormais de dépasser 10 mg/kg/j chez l'enfant et 500 mg/j chez le patient adulte (risque de défaillance respiratoire chez l'enfant (> 500 mg/j) et à long terme de neuropathie chez le patient adulte (> 900 mg/j)) (2).

- **Forme non B6-sensible ou partiellement sensible :**



Chez les sujets diagnostiqués durant l'enfance, l'objectif du traitement est de prévenir la survenue de complications tout en assurant une croissance normale grâce à un statut nutritionnel couvrant les besoins en protéines. Lorsque le diagnostic est posé à l'âge adulte, l'objectif est surtout de prévenir la survenue ou récurrence de complications thrombo-emboliques, et de troubles neurologiques, sans carencer le patient en protéines. L'objectif est d'atteindre une homocystéine au moins inférieure à 100  $\mu\text{mol/l}$ . (2).

Chez ces sujets, **un régime limité en méthionine**, et donc pauvre en protéines naturelles, est nécessaire, compensé par la prise de mélanges artificiels d'acides aminés (dépourvus de méthionine) pour assurer les besoins en protéines de l'organisme et permettre notamment une croissance normale chez l'enfant. Ces régimes ne doivent pas être trop restrictifs afin d'une part de favoriser l'observance tout le long de la vie et laisser un apport suffisant de méthionine puisqu'il est un acide aminé essentiel. Si ce traitement ne suffit pas, un **traitement par bétaine** vient parfois compléter ce régime limité en méthionine. La bétaine, substrat de l'enzyme BHMT, vient en effet jouer le rôle de donneur de méthyl afin de favoriser la conversion de l'homocystéine en méthionine. Le traitement par bétaine induit par conséquent une élévation du taux de méthionine, qu'il convient de surveiller en raison du risque d'œdème cérébral en cas de taux supérieurs à 1000  $\mu\text{mol/L}$ . Cette complication a été rapportée dans la littérature mais reste anecdotique grâce à la surveillance et à l'adaptation posologique (2). La prise de bétaine peut entraîner une odeur corporelle de poisson, limitant parfois son observance.

Il n'existe actuellement pas de consensus sur le fait de maintenir ou non ces patients « non-B6 sensibles » par une faible dose de pyridoxine au long cours (2).

Enfin, même si le déficit en CBS concerne la voie de transsulfuration, il s'agit d'éviter les carences vitaminiques en B9 et B12 cofacteurs de la voie de reméthylation afin d'optimiser le fonctionnement de l'ensemble du cycle de l'homocystéine. Les taux de vitamines B9 et B12 doivent être normaux et en pratique une supplémentation contrôlée systématique est proposée.

## 2. Cycle de reméthylation : déficit en MTHFR

Dans les déficits en MTHFR, il n'y a pas de « régime » particulier à suivre pour limiter la charge en méthionine puisqu'au contraire elle est normale ou basse. Les régimes pauvres en protéines sont même proscrits afin de ne pas aggraver le déficit en méthionine. Au cas par cas, une supplémentation en méthionine peut se discuter. Sur le plan physiopathologique, rappelons que ce déficit entraîne une baisse du 5-méthyl-THF (et donc une carence cérébrale en méthyl-THF). Ainsi, le traitement repose essentiellement sur l'administration de **bétaïne** (substrat de l'enzyme BHMT) afin de restaurer les capacités de reméthylation de l'homocystéine en méthionine (Figure 1): le retentissement de la carence en méthionine (donneur de méthyl) est donc limité ainsi que celui de l'excès d'homocystéine. Ce traitement doit être débuté au plus tôt. Il s'agit du seul traitement ayant montré une réelle efficacité.

En pratique clinique, l'adjonction de folates est souvent réalisée, afin notamment de corriger les concentrations basses de méthyl-THF. Parmi les folates, l'utilisation d'acide folinique (5-formyl-THF) est souvent préférée du fait d'une stabilité et d'une capacité à franchir la barrière hémato-encéphalique plus importante que celles de l'acide folique (5). L'association acide folique et folinique a également été proposée.

Cependant, certaines études suggèrent qu'un traitement à base d'acide folique pourrait exacerber le déficit intracérébral en méthyl-THF. A ce jour, il n'y a pas d'arguments forts allant dans le sens d'un bénéfice ou d'un effet péjoratif d'un traitement par folates.

### 3. Cycle de reméthylation : déficit en cobalamine.

La plupart des connaissances proviennent des études réalisées chez les sujets présentant un déficit en CblC. La prise en charge des autres déficits du métabolisme intra-cellulaire de la cobalamine s'y superpose.

Dans cette situation aussi la méthionine est basse et il n'y a pas de régime à envisager. En revanche, la base du traitement pour favoriser la reméthylation de l'homocystéine repose sur l'administration d'**hydroxocobalamine (OHCbl)** par voie parentérale associée à la bétaine. L'OHCbl intègre directement le métabolisme intracellulaire des cobalamines et son efficacité est bien supérieure à celle de la cyanocobalamine. A la phase aiguë, les injections d'OHCbl sont réalisées quotidiennement, parfois par voie intraveineuse. Sur le long terme, la voie intramusculaire est utilisée. La fréquence d'administration est individualisée selon la réponse métabolique afin d'obtenir une dose minimale efficace (réponse dose-dépendante). Le traitement complémentaire reméthylant par bétaine (par voie orale) est nécessaire afin d'obtenir une réponse métabolique optimale (effet synergique).

Un traitement complémentaire par folates est souvent prescrit (acide folique ou

folinique), pour optimiser l'efficacité du cycle de reméthylation, bien qu'il n'existe pas de preuve formelle de leur efficacité.

Quelques études suggèrent un effet bénéfique de la lévocarnitine mais il n'existe à ce jour pas de consensus sur son utilisation (la synthèse de *novo* de carnitine dépend de la méthionine, diminuée dans les déficits en CblC).

Une supplémentation orale par méthionine peut là encore être nécessaire chez certains sujets afin de normaliser les taux de méthionine.

*Tableau 7: Principes des prises en charge thérapeutique des hyperhomocystéinémies génétiques.*

	Déficit en CBS-B6-sensible	Déficit en CBS-non-B6-sensible	Déficit MTHFR	en	Déficits en cobalamine	en
<b>Efficacité prouvée</b>	-Pyridoxine Dose journalière minimale efficace	-Régime pauvre en méthionine -Bétaïne	-Bétaïne	-	Hydroxocobalamine IM ± IV	-Bétaïne
<b>Efficacité supposée</b>		± pyridoxine	Acide folinique/folique ± méthionine ± lévocarnitine		Acide folinique/folique ± méthionine ± lévocarnitine	
<b>Objectif HCY*</b>	< 50 µmol/L	< 100 µmol/L	< 100 µmol/L		< 50 ? µmol/L ?	< 100
<b>Surveillance et supplémentation des carences en vitamines B12 et B9</b>						

\* HCY : Homocystéine totale plasmatique.

#### **4. Cas particulier de la contraception et de la grossesse en cas d'hyperhomocystéinémie notamment génétique.**

La fertilité ne semble pas être altérée chez les patients présentant une hyperhomocystéinémie génétique. En cas d'hyperhomocystéinémie intermédiaire ou sévère ( $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ ), la contraception oestro-progestative n'est pas recommandée. Il existe peu de données sur la sécurité d'utilisation des œstrogènes chez les patientes présentant un bon contrôle métabolique. La grossesse et le post-partum exposent à un risque accru de maladie thrombo-embolique (MTEV) de manière générale. Une anticoagulation préventive pourra être discutée selon le taux d'homocystéinémie et les antécédents personnels de MTEV. L'hyperhomocystéinémie a également été associée à des pathologies vasculaires placentaires (prééclampsie, hématome rétro-placentaire, retard de croissance intra-utérin, mort fœtale in utero...). Un traitement par aspirine de 12 à 35 semaines d'aménorrhée, plus ou moins en association à un traitement par HBPM, sera recommandé en cas d'antécédents de fausse couche à répétition.

#### **E. INDICATIONS DU DOSAGE DE L'HOMOCYSTEINE**

## 1. Phénotype évocateur d'une hyperhomocystéinémie génétique

Les signes cliniques évocateurs sont décrits dans le paragraphe I.B.2.b.

## 2. Bilan de thrombophilie

Sous l'égide du groupe d'étude en hémostase et thrombose (GEHT) et de la société française de médecine vasculaire (SFMV), des recommandations ont été émises en 2009, actualisées en 2019, sur la recherche de facteurs de risque biologiques de maladies thrombo-emboliques veineuse (MTEV). Le dosage de l'homocystéine plasmatique ne fait pas partie du bilan d'hémostase de première intention mais est envisagé dans « les formes graves chez l'enfant et l'adulte jeune, en particulier lorsque celle-ci s'accompagne d'un tableau neurologique » (suspicion de thrombophlébite cérébrale). Le contexte clinique associé à un événement thrombotique artériel et/ou veineux (dysmorphie, trouble neurologique, gravité et mécanisme physiopathologique de l'événement thrombotique ...) peut orienter vers un dosage de l'homocystéine. Dans de nombreuses équipes, mais sans que cela soit systématique d'un centre à l'autre, le caractère atypique d'une localisation thrombotique (cérébrale, splanchnique, des membres supérieurs) sera aussi un critère important pour associer au bilan d'hémostase de 1<sup>ère</sup> intention un dosage de l'homocystéine. La société savante GEHT est actuellement en cours de réactualisation des recommandations et la place du dosage de l'homocystéine y est discutée.

Enfin, en cas d'antécédents de 3 fausses couches spontanées < 10 SA, il est proposé de rechercher une hyperhomocystéinémie (29). En effet, un lien causal entre une hyperhomocystéinémie même modérée et le risque de faire des fausses couches à répétition a été suggéré. Ces données restent néanmoins à réactualiser.

### **3. Recherche d'une carence en vitamine B12**

Le dosage sérique de la vitamine B12 correspond à une mesure de la concentration totale de vitamine B12 circulant dans le sang grâce à ses protéines de liaison. La vitamine B12 biodisponible (active) ne représente que 20 % de la forme sérique.

La concentration sérique de vitamine B12 n'est donc pas parfaitement représentative des stocks intra-cellulaires de cobalamine et peut sous-estimer une authentique carence, ce d'autant que la Vitamine B12 sérique peut-être majorée dans certaines situations : libération cellulaire de B12 en cas d'hépatopathies, production de transcobalamine augmentée dans certains cancers.... Les dosages de l'homocystéine et de l'acide méthylmalonique (AMM), s'ils sont élevés peuvent être les témoins fonctionnels d'une carence en B12. L'homocystéinémie est un marqueur sensible de carence en cobalamine et s'élève (mais de manière modérée) dès lors que les concentrations de la vitamine B12 atteignent la limite basse de la norme (Figure 7) (30), (19). Le dosage de l'homocystéine peut être parfois utile pour identifier les personnes à risque de développer une carence intracellulaire en vitamine B12, en fonction du contexte clinique ou médicamenteux.

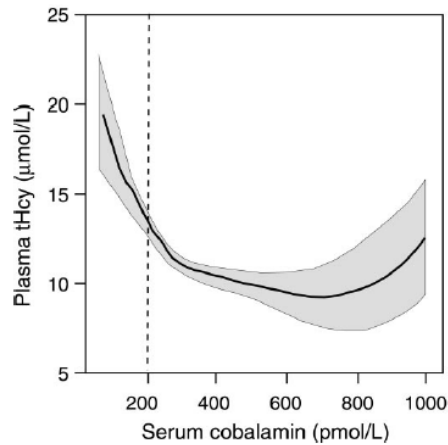


Figure 7 : Relation entre l'homocystéinémie et les concentrations sériques de vitamines B12.

L'homocystéinémie commence à s'élever pour des concentrations encore normales de cobalamine. La ligne en pointillée représente les concentrations pour lesquelles une carence est définie (200 pmol/L ou 271 pg/mL).

Issue de Refsum et al., 2004 (19)

#### 4. Evaluation du risque cardiovasculaire ?

Il faut distinguer les hyperhomocystéinémies modérées (14 à 50 µmol/L) de celles intermédiaires ( $\geq 50$  µmol/L) à sévères ( $\geq 100$  µmol/L).

Le risque thrombotique des hyperhomocystéinémies sévères ( $\geq 100$  µmol/L) est largement documenté dans la littérature, même si sa physiopathologie reste encore à éclaircir sur certains points. En 1985, Mudd et ses collaborateurs mettaient en évidence que les sujets présentant un déficit en CBS avec des taux élevés d'homocystéinémie, développaient des événements vasculaires de manière précoce, parfois dans l'enfance : 30% de risque d'avoir un événement vasculaire avant 20 ans, 50% à partir de l'âge de 30 ans (32). Par la suite, les études ont montré qu'une prise en charge thérapeutique visant à abaisser le taux d'homocystéine, permettait



de réduire l'incidence d'évènement vasculaire chez ces sujets atteints d'homocystinurie (31), (3).

De ces observations et progressivement, notamment dans les années 90, il a été suggéré que les hyperhomocystéinémies modérées seraient associées à un risque de développer ou participer à la genèse d'une maladie cardiovasculaire : l'hyperhomocystéinémie modérée (définie à l'époque entre 14 et 30  $\mu\text{mol/L}$  dans la plupart des études) était un facteur de risque cardiovasculaire dans la population générale (32), (33). Par la suite, de nombreux essais cliniques ont été conduits chez des patients présentant une hyperhomocystéinémie modérée ( $< 30 \mu\text{mol/L}$ ), visant à évaluer les effets d'une supplémentation vitaminique sur la survenue d'évènements cardiovasculaires. Ces études ont montré que bien que l'homocystéine ait diminué significativement sous les traitements vitaminiques, il n'y a pas eu d'effets bénéfiques sur la survenue d'évènements cardiovasculaires, que ce soit en prévention primaire ou secondaire. (34), (35). Une revue Cochrane, parue en 2017, portant sur 15 études randomisées, soit un total de 71 422 sujets, conclut à l'absence d'effet d'une stratégie de baisse de l'homocystéine par un traitement vitaminique sur la survenue d'infarctus du myocarde et de décès toute cause confondue. En revanche, un faible effet est retrouvé concernant la prévention des AVC en comparaison à un traitement placebo (survenue d'un AVC : 4,3% contre 5,1%, RR = 0,90, IC 95% (0,82 – 0,99), sur 10 essais, N = 44 224) (35). Ces résultats restaient néanmoins discutables au vu de certains biais méthodologiques. Actuellement, l'hyperhomocystéinémie quand elle reste modérée n'est pas considérée comme un facteur de risque cardiovasculaire et il n'est plus recommandé de doser l'homocystéine dans cette indication.

## 5. Dépistage néonatal

Dans certains pays (la France n'en faisant pas partie), un dépistage systématique de l'homocystinurie a lieu entre J3 et J5 de vie par le dosage de la méthionine sur une goutte de sang séché. Une extension du dépistage néonatal à plusieurs erreurs innées du métabolisme, dont l'homocystinurie classique, fait actuellement l'objet d'un travail d'expert en collaboration avec la Haute Autorité de Santé (36).

## II. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

**L'objectif primaire** de cette étude est d'identifier les différentes étiologies d'hyperhomocystéinémie  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  au sein d'une population de 286 patients chez lesquels le prélèvement a été réalisé **entre le 1er janvier 2014 et le 31 mars 2020**.

Les objectifs secondaires sont les suivants :

- description phénotypique des patients pédiatriques et adultes chez qui le diagnostic d'une hyperhomocystéinémie génétique a été réalisé ;
- identification des contextes cliniques ayant conduit au dosage d'homocystéine chez les patients adultes ;
- comparaison des valeurs d'homocystéine entre les patients adultes ayant présentés un évènement thrombotique artériel et/ou veineux et ceux qui n'en ont pas présenté.

### III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

#### A. ETUDE

Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective concernant une population de 286 patients (23 enfants, 263 adultes) pris en charge au sein du CHU de LILLE entre le 1<sup>er</sup> janvier 2014 et 31 mars 2020.

#### B. PATIENTS

Inclusion des sujets :

- Avoir bénéficié d'au moins un dosage d'homocystéine totale plasmatique (HCY) entre 1<sup>er</sup> janvier 2014 et 31 mars 2020 et pour lequel la valeur du résultat était  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ .
- Prescription de ce dosage émanant d'un des services du CHU LILLE.
- Aucune limite d'âge.

Exclusion des sujets : demande d'analyse d'HCY par un service extérieur au CHU.

#### C. METHODE DE RECUEIL DES DONNEES

- **Une extraction nominative** des taux d'homocystéine plasmatique de valeur  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  du 1<sup>er</sup> janvier 2014 au 31 mars 2020, a été réalisée, année par année, à partir du logiciel MOLIS utilisé au centre de biologie du CHU de Lille (CBP). Lorsque plusieurs valeurs correspondaient à un même sujet, seul le premier dosage de l'extraction a été retenu.
- Ces dosages étaient réalisés lors d'une hospitalisation ou d'une consultation

principalement au sein des **services suivants** : neurologie, néphrologie, médecine interne, pédiatrie, hémostase, endocrinologie-diabétologie-maladie métabolique-nutrition (EDMN), chirurgie vasculaire, cardiologie.

- Les responsables et professionnels médicaux impliqués au sein des principaux services prescripteurs (neurologie, néphrologie, médecine interne, pédiatrie, hémostase, EDMN) ont été contactés, et leur accord de principe a été obtenu pour consulter les dossiers médicaux.
- **Une demande d'autorisation de recherche médicale a été enregistrée auprès de la CNIL** en décembre 2019 : la déclaration est intégrée dans le registre de déclaration normale du Centre Hospitalier Universitaire de Lille (Attestation N/Réf : DEC19-470 en Annexe 6).
- Les informations cliniques ont été recherchées dans le dossier médical informatisé (courriers médicaux). Les informations non mentionnées dans les courriers ont été considérées comme des données manquantes.

## **D. PARAMETRES COLLECTES**

### **1. Données cliniques globales.**

- **Indication** du dosage.
- Paramètres anthropométriques : **âge, sexe, IMC.**
- Contexte clinique : **hypertension artérielle (HTA), dyslipidémie, diabète, tabagisme actif, éthylisme actif**, cancer, ou hémopathie.

Les sujets pour lesquels nous n'avons pas retrouvé la notion de l'existence ou non

d'une HTA dans les courriers mais dont le traitement ne comprenait pas de médicaments anti-hypertensives étaient considérés comme non hypertendus.

Les sujets pour lesquels nous n'avons pas retrouvé la notion de diabète mais dont la glycémie à jeun était normale ET dont le traitement ne comprenait pas de médicaments antidiabétiques étaient considérés comme non diabétiques.

Les sujets pour lesquels nous n'avons pas retrouvé la notion d'une dyslipidémie ET chez qui le traitement ne comprenait pas de médicaments hypolipémiants étaient considérés comme non dyslipidémiques.

- Instauration d'une supplémentation vitaminique (en vitamines B9 et B12).

## **2. Focus sur les évènements thrombotiques.**

Pour les évènements thrombotiques les items suivant ont été recherchés dans les courriers médicaux:

- Présence de facteurs de risque majeurs de thrombose veineuse (évènement provoqué) : chirurgie sous anesthésie générale de plus de 30 min dans les 3 derniers mois, fracture des membres inférieurs dans les 3 derniers mois, immobilisation plus de 3 jours dans les 3 derniers mois ; contraception oestro-progestative ; traitement hormonal de la ménopause.
- Anomalie de l'hémostase majeure si recherchée : SAPL (syndrome des anti-phospholipides), cancer évolutif, déficit en antithrombine III, protéine C, protéine S, hétérozygotie composite facteur V Leiden et facteur II mutation G20210A, homozygotie facteur II mutation G20210A et facteur V Leiden).

- Age du 1<sup>er</sup> épisode
- Caractère récidivant ou multiple
- Localisation : notamment en cas de localisation atypique (thrombose veineuse cérébrale, membre supérieur, digestive, occlusion de la veine centrale de la rétine (OVCR), occlusion de l'artère centrale de la rétine (OACR)).

NB :Le mécanisme imputable à la thrombose n'a pas été relevé (thrombose in situ, embole sur plaque athérome, embole sur cardiopathie emboligène, maladies des petites artères, indéterminé).

### 3. Signes neurologiques

Nous avons relevé si les dosages de l'HCY étaient réalisés dans un contexte de :

- **Troubles cognitifs** (les items suivant n'ont pas été relevés dans le contexte de cette étude rétrospective : la sévérité du trouble, la présence ou non de troubles du comportement ou d'un syndrome confusionnel, l'étiologie (maladie d'Alzheimer, démence vasculaire...), l'imagerie cérébrale).
- Contexte clinique ayant justifié le dosage :
  - Epilepsie
  - Troubles de la marche
  - Paresthésies
  - Encéphalopathie

## 4. Recueil des données biologiques

- Homocystéine totale plasmatique ( $\mu\text{mol/L}$ ) (HCY) pour une valeur  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ .
- Acide méthylmalonique urinaire ( $\text{N} < 5 \text{ mmol/mol}$  de créatinine) si une chromatographie des acides organiques urinaires était réalisée
- Méthionine plasmatique en cas de chromatographie des acides aminés disponible (normes chez l'adulte:  $16 - 29 \mu\text{mol/L}$ ).
- Vitamine B6 plasmatique ( $\text{nmol/L}$ ) ( $\text{N} : 20 - 121$ )
- Vitamine B9 :
  - folates érythrocytaires ( $\text{ng/mL}$ ), ( $\text{N} : 140 - 836$ )
  - folates sériques ( $\text{ng/mL}$ ), ( $\text{N} : 3,1 - 19,9$ )
- Vitamine B12 plasmatique ( $\text{ng/mL}$ ), ( $\text{N} : 0,2 - 1$ )
- Créatinine plasmatique ( $\text{mg/L}$ )
- Stade d'insuffisance rénale chronique défini selon la classification de KDIGO, à partir du débit de filtration glomérulaire (DFG, exprimé en  $\text{mL/min/1,73m}^2$ ) estimé selon la formule de MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) à l'aide des valeurs de créatinine plasmatique recueillies (stade 1 :  $\text{DFG} \geq 90$ ; stade 2 :  $\text{DFG}$  entre 60 et 89; stade 3  $\text{DFG}$  entre 30 et 59; stade 4 :  $\text{DFG}$  entre 15 et 29; stade 5 = insuffisance rénale terminale :  $\text{DFG} < 15$ ).
- Hémoglobine plasmatique ( $\text{g/dL}$ ) et le volume globulaire moyen ( $\text{fL}$ ) relevés au cas par cas, pour certaines étiologies d'hyperhomocystéinémie.



## 5. Dosage de l'homocystéine totale plasmatique

Le prélèvement est réalisé sur un tube EDTA, acheminé sur glace au laboratoire, puis centrifugé à + 4°C. Le plasma est décanté dans deux tubes à hémolyse puis congelé, les analyses se faisant en série la plupart du temps.

L'homocystéinémie est dosée par chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à une spectroscopie de masse (HPLC-MASSE) (spectromètre de masse de type SCIEX 3200 QTRAP avec injecteur automatique HPLC de type UFLC-XR SHIMADZU). Un contrôle qualité externe est régulièrement effectué.

Les valeurs physiologiques sont fixées comme étant < 14 µmol/L.

## 6. Recherche d'une maladie génétique altérant la voie de reméthylation ou de la transsulfuration.

Lorsqu'une maladie héréditaire du métabolisme de l'homocystéine était suspectée, un consentement éclairé pour une analyse génétique était discuté et recueilli.

Deux laboratoires ont contribué à l'analyse génétique des patients :

- Laboratoire de biochimie-hormonologie et génétique du Pr JF. Benoist (Centre Hospitalier Robert-Debré de l'AP-HP, situé désormais à l'Hôpital Necker de l'AP-HP). Grâce à la technique de séquençage nouvelle génération (Next Generation Sequencing, NGS), un panel de gènes a été étudié chez les patients, ciblé en fonction du contexte clinique (étude de la reméthylation, du métabolisme des folates, du métabolisme des cobalamines, du gène CBS...) et évoluant entre 2014 et 2020 : MTHFR (déficit en MTHFR), MTR (déficit en

CblG), MTRR (déficit en CblE), MMACHC (déficit en CblC), MMADHC (déficit en CblD), LMBRD1 (déficit en CblF), ABCD4 (déficit en CblJ), GIF (déficit en facteur intrinsèque), CBS (déficit en CBS)...

- Laboratoire de biochimie spécialisée-Analyse génétiques du service du Pr H. de VERNEUIL, analyse sous la responsabilité du Dr I. REDONNET-VERNHET : génotypage du gène CBS.

## **7. Recherche des 2 principaux variants du gène MTHFR.**

La présence d'un polymorphisme du gène de la Méthylène-tétrahydrofolate réductase (MTHFR) à l'état homozygote ou hétérozygote composite a été recherchée chez certains patients.

Seules les deux mutations faux sens les plus courantes du gène MTHFR sont recherchées en première intention au sein du laboratoire de pharmacogénétique du CHU de Lille : NM\_005957.4(MTHFR): c.665C>T (n°rs1801133, connue sous l'appellation C677T) et la NM\_005957.4(MTHFR) :c.1286A>C (n°rs1801131, A1298C). Ces deux mutations entraînent un déficit d'activité de la 5,10-MTHFR.

L'analyse moléculaire du gène MTHFR est effectuée par PCR-séquençage selon la méthode de Sanger. Après extraction de l'ADN génomique du patient, les exons codants sont amplifiés par PCR avant d'être analysés par séquençage (kit de séquençage BigDye Terminator Kit, séquenceur automatique Applied Biosystems 3130 XL, logiciel SeqScape Software v2.5.6).

## **8. Diagnostic sur étude fonctionnelle sur fibroblastes.**

Le diagnostic d'une maladie héréditaire du métabolisme de l'homocystéine avait été antérieurement établi il y plus de 10 ans chez deux des patients de notre population par la technique suivante : Culture de fibroblastes pour réalisation d'une étude fonctionnelle du métabolisme de l'homocystéine avec étude de complémentation.

### **E. ANALYSES STATISTIQUES**

Les variables qualitatives ont été décrites en termes d'effectifs et de pourcentages et les variables quantitatives non gaussiennes en termes de médianes et d'intervalles interquartiles. La normalité des distributions a été vérifiée graphiquement et testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Les corrélations entre deux variables quantitatives ont été évaluées à l'aide du coefficient de corrélation de Spearman. Les valeurs d'homocystéine ont été comparées, entre deux groupes de patients, à l'aide d'un test U de Mann-Whitney et, entre plus de deux groupes de patients, à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis.

L'effet de l'homocystéine sur la survenue d'un évènement thrombotique artériel seul, veineux seul, artériel ou veineux (précédant et indiquant le dosage) a été analysé à l'aide de modèles de régression logistique avec ajustement sur des variables prédéfinies parmi les variables suivantes : l'âge, le sexe, le tabagisme, le diabète, la dyslipidémie, l'hypertension artérielle, l'IMC.

Avant de développer les modèles multivariés, nous avons vérifié l'hypothèse de log-linéarité de l'homocystéine et de l'âge à l'aide de fonctions Splines cubiques restreintes et l'absence de colinéarité entre les variables incluses dans l'analyse multivariée en calculant les facteurs d'inflation de la variance (VIF). La variable âge ne vérifiant pas l'hypothèse de log-linéarité, elle a été découpée en classes selon les quartiles.

Les tailles d'effets associées à l'homocystéine ont été exprimées par les odds-ratio et leur intervalle de confiance à 95%.

En raison du nombre de données manquantes de certaines variables d'ajustement, nous avons estimé la taille de l'effet de l'homocystéine sur la survenue d'un évènement thrombotique après imputation multiple (méthode des équations chaînées,  $m=10$  ensembles de données imputés). La procédure d'imputation a été réalisée selon l'hypothèse de données « manquantes au hasard » (missing-at-random) en utilisant l'ensemble des variables d'ajustement et l'homocystéine. Les estimations obtenues dans les différents ensembles de données imputées ont été combinées selon les règles de Rubin.

Des tests bilatéraux ont été réalisés avec un niveau de significativité de 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4). Les analyses statistiques ont été réalisées par l'Unité de Méthodologie - Biostatistique du CHU de Lille.

L'effet de l'homocystéine sur la survenue d'un évènement thrombotique (artériel seul, veineux seul, artériel ou veineux) a été analysé à l'aide de modèles de régression logistique avec ajustement sur des variables prédéfinies parmi les variables

suivantes : l'âge, le sexe, le tabagisme, le diabète, la dyslipidémie, l'hypertension artérielle, l'IMC.

Avant de développer les modèles multivariés, nous avons vérifié l'hypothèse de log-linéarité de l'homocystéine et de l'âge à l'aide de fonctions Splines cubiques restreintes et l'absence de colinéarité entre les variables incluses dans l'analyse multivariée en calculant les facteurs d'inflation de la variance (VIF). La variable âge ne vérifiant pas l'hypothèse de log-linéarité, elle a été découpée en classes selon les quartiles.

Les tailles d'effets associées à l'homocystéine ont été exprimées par les odds-ratio et leur intervalle de confiance à 95%.

En raison du nombre de données manquantes de certaines variables d'ajustement, nous avons estimé la taille de l'effet de l'homocystéine sur la survenue d'un événement thrombotique après imputation multiple (méthode des équations chaînées,  $m=10$  ensembles de données imputés). La procédure d'imputation a été réalisée selon l'hypothèse de données « manquantes au hasard » (missing-at-random) en utilisant l'ensemble des variables d'ajustement et l'homocystéine. Les estimations obtenues dans les différents ensembles de données imputées ont été combinées selon les règles de Rubin.

## IV. RESULTATS

### A. DESCRIPTION DE LA POPULATION TOTALE

#### 1. Population étudiée

Sur les 13 715 dosages d'homocystéine totale plasmatique (HCY) réalisés au sein du laboratoire du CHU de Lille (Centre de Biologie-Pathologie, CBP) du 1er janvier 2014 au 31 mars 2020, seuls 540 présentaient une valeur  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$ , soit 4 % d'entre eux (Figure 8).

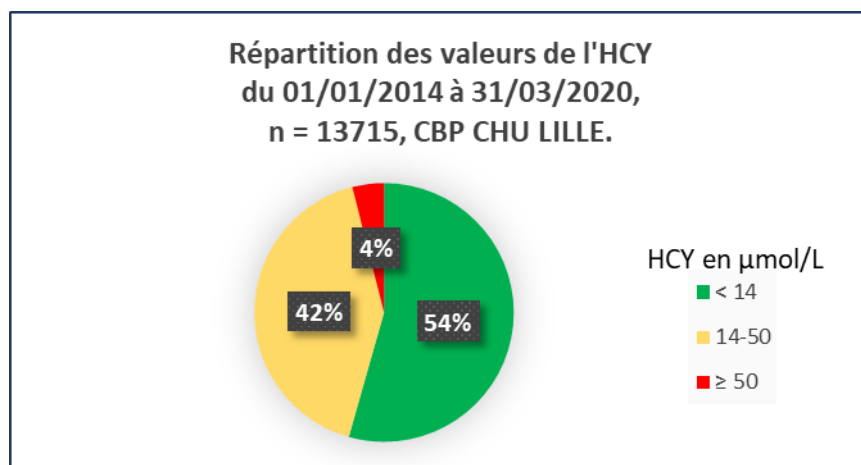


Figure 8: Répartition valeurs d'homocystéine totale plasmatique demandées du 1<sup>er</sup> janvier 2014 au 31 mars 2020.

Après exclusion des personnes suivies en dehors du CHU de Lille, nous obtenons une population **de 286 patients** ayant eu un dosage d'homocystéinémie d'une valeur  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$ , comprenant 23 enfants et 263 adultes (Figure 9).

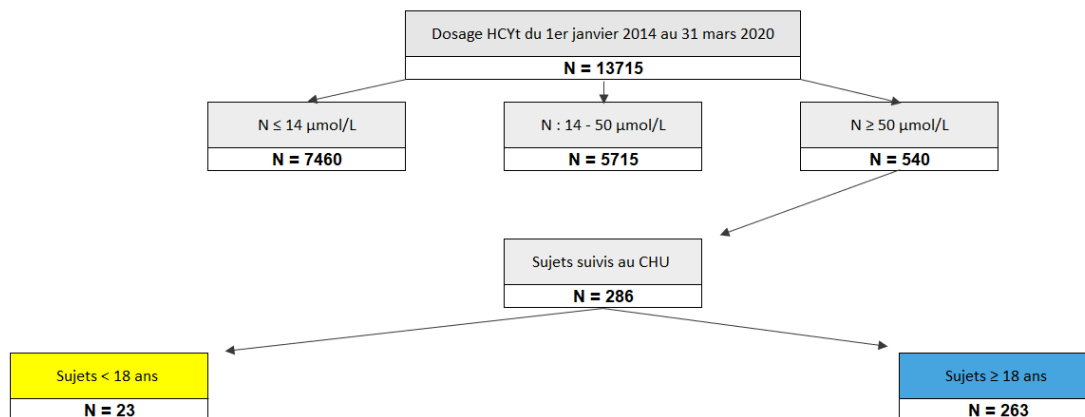


Figure 9. Population de sujets ayant une hyperhomocystéinémie  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  au sein du CHU de Lille

Tableau 8 : Description de la population totale,  $n = 286$  patients avec  $\text{HCY} \geq 50 \mu\text{mol/L}$  (23 enfants, 283 adultes).

Paramètres	Médiane (Q1 ; Q3)	Min-Max
<b>Population</b>		
<b>n = 286</b>		
Sexe ratio	187H/99F	
Age		3 jours- 91 ans
HCY*	69 (57 ; 105,75)	50 - 317
HCY > 100	80/286 (30)	101 - 317

\*Homocystéine totale plasmatique

## 2. Explorations spécialisées chez les enfants et les adultes

1) Tous les patients pédiatriques ont bénéficié d'une chromatographie des acides aminés plasmatiques contre 44% des patients adultes; 85% des patients adultes n'ont pas bénéficié d'un dosage d'AMM urinaire (chez les 2 enfants sans dosage AMM, il n'était effectivement pas indiqué du fait de l'étiologie évidente dans le contexte de l'insuffisance rénale terminale). (Tableau 9).

*Tableau 9 : Explorations biologiques et métaboliques des patients pédiatriques et adultes.*

	<b>Enfant (&lt; 18 ans)</b>	<b>Adulte</b>
	<b>N = 23</b>	<b>N=263</b>
	<b>Données manquantes</b>	<b>Données manquantes</b>
<b>Vitamines</b>		
Aucun dosage (B9 et/ou B12)	<b>1 (4%)</b>	<b>22 (3.5%)</b>
<b>CAAp (Méthionine)</b>	<b>0 (0%)</b>	<b>174 (66%)</b>
<b>AMM u</b>	<b>2 (8%)</b>	<b>225 (85%)</b>

CAAp : Chromatographie des acides aminés plasmatiques. AMM u : Acide Méthyl Malonique Urinaire

2) La médiane des taux d'homocystéine associée à une demande de dosage des acides aminés plasmatiques est significativement plus élevée que celle sans dosage de méthionine, dans la population adulte (Tableau 10).



Tableau 10 : Comparaison des valeurs d'HCY avec et sans réalisation de CAA p (dosage de méthionine) dans la population adulte (n=263).

	<b>HCY avec CAAp n=89</b>	<b>HCY sans CAAp n=174</b>	<b>p</b>
HCY médiane (Q1;Q3)	101 (64;144)	64 (54.8;80)	< 0.001

3) Le pourcentage de patients pédiatriques ayant bénéficié d'une **exploration génétique<sup>1</sup>** à la recherche d'un déficit CBS ou d'un déficit altérant le cycle de la reméthylation est de **56 % (13 enfants/23) chez l'enfant, contre 7.6 % (20/263) chez l'adulte.**

---

<sup>1</sup> **en dehors de la recherche** d'un des variants commun MTHFR.

## B. POPULATION PEDIATRIQUE (< 18 ANS, N = 23 PATIENTS).

### 1. Paramètres étudiés

Tableau 11 : Description de la population pédiatrique, n = 23.

Paramètres	Présence	Médiane	Min-Max
Population	paramètre	(Q1 ; Q3)	
<b>n = 23</b>			
<hr/>			
Sexe ratio			
<hr/>			
Age (ans)			
<hr/>			
HCY*			
<hr/>			
HCY > 100	11/23		
<hr/>			
IRC stade 4 et 5**	2/23		
<hr/>			
Carence	7/23		
<hr/>			
B9 et/ou B12			
<hr/>			

\*Homocystéine totale plasmatique \*\*Insuffisance Rénale Chronique † sur effectif testé.

### 2. Etiologies des hyperhomocystéinémies $\geq 50$ $\mu\text{mol/L}$ .

**Répartition des patients selon les causes identifiées ou fortement supposées d'hyperhomocystéinémie (HyperHCY).**

Au sein de cette population, nous avons identifié différents groupes selon la

principale cause d'élévation de l'homocystéinémie que l'on pouvait retenir (Figure 10) :

- 1) **Le groupe « hyperhomocystéinémie génétique ».**
- 2) **Le groupe « Insuffisance rénale chronique »** : patients présentant une IRC sévère (stade 4 (débit de filtration glomérulaire inférieur à 30 ml/min/1,73m<sup>2</sup> selon la formule de MDRD) ou terminale (débit de filtration glomérulaire inférieur à 15 ml/min/1,73m<sup>2</sup> ou dialyse)).
- 3) **Le groupe « carentiel »** : patients présentant au moins une carence en vitamines B9 et/ou en B12 ± associé à une carence en B6, et de manière anecdotique seulement en B6.
- 4) **Le groupe « non identifié »**

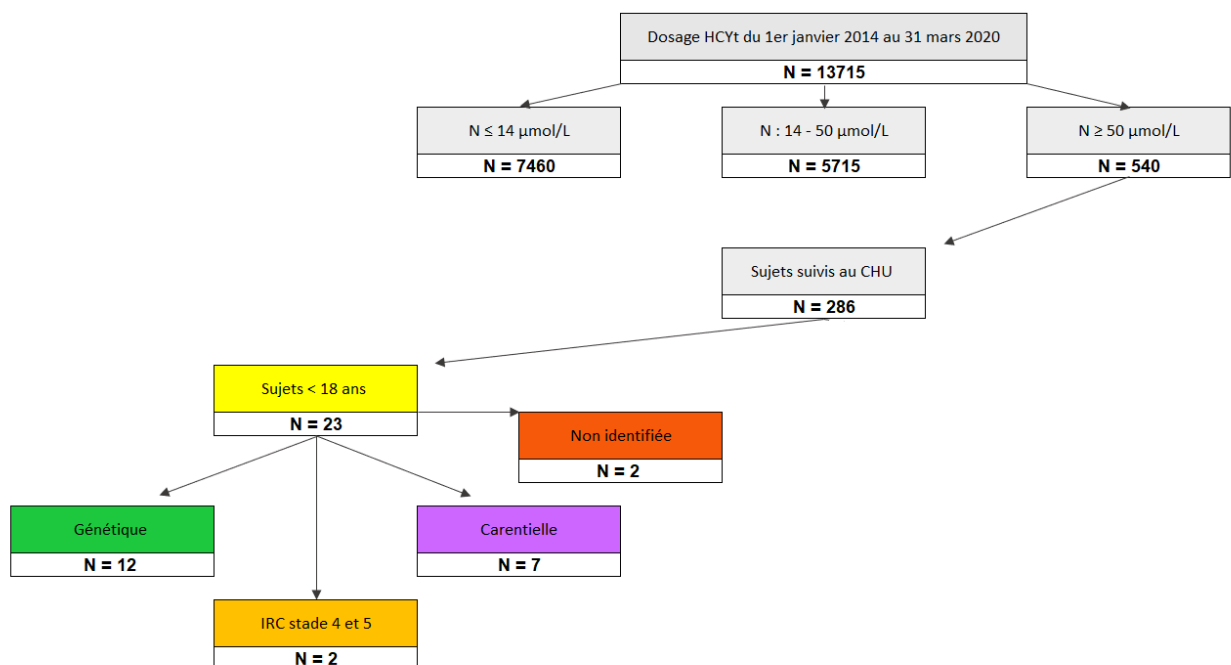
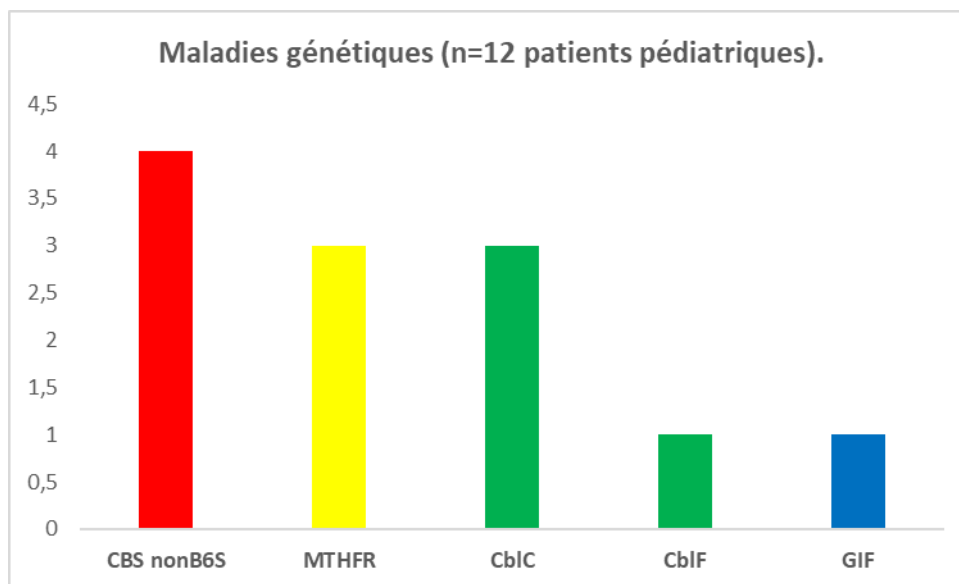


Figure 10 : Etiologies retenues des HyperHCY ≥ 50 μmol/L dans la population pédiatrique

### a) Groupe 1 : Hyperhomocystéinémies génétiques, n=12.

Parmi les 23 enfants avec une hyperhomocystéinémie totale plasmatique > 50  $\mu\text{mol/L}$ , **12 (52 %)** présentaient une maladie génétique affectant le métabolisme de l'homocystéine (Figure 11) :

- 4 déficits en CBS sous une forme B6-non-sensible
- 3 déficits en MTHFR
- 3 déficits en CblC
- 1 déficit en CblF
- 1 déficit en GIF.



*Figure 11 : Maladies génétiques affectant le métabolisme de l'homocystéine au sein de la population pédiatrique*

L'homocystéinémie médiane dans ce groupe « génétique » de 12 patients était de 122  $\mu\text{mol/L}$  (Q1 88 ; Q3 180), avec une valeur maximale à **290  $\mu\text{mol/L}$** .

Les grandes caractéristiques anamnestiques, biologiques et génétiques de ces 12 patients sont rapportées dans le Tableau 12.

Parmi ces 12 patients :

- **8** ont été diagnostiqués à l'occasion de ce résultat d'hyperhomocystéinémie inaugurale :
  - **Découverte de 3 déficits en CblC** (dont 2 d'une même famille) : patients 1,2 et 3 (cf Tableau 12).
  - **Découverte de 2 déficits en MTHFR** : patients 4 et 5.
  - **Découverte d'un déficit héréditaire en FI (GIF)** : patient 6.
  - **Découverte de 2 déficits en CBS** : patient 5 (**non-B6-sensible**) à l'âge de 4,5 ans et chez sa sœur (par dépistage familial, patiente 6), mais cette fois-ci dans une forme d'allure **B6-sensible** (génotype différent de son frère le patient 5 : étude de l'épissage de l'ARNm en cours au sein de cette famille pour comprendre la pathogénicité d'un des variants, non connu et mis en évidence chez la patiente 6, son père et sa tante paternelle) (cf Tableau 12).
- **4** patients avaient été diagnostiqués avant le début du recueil en 2014 mais leur HCY restait  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  sous traitement : 1 patient présente un déficit en **MTHFR** (patient 9), 1 patient un déficit en **CblF** (patient 10), 2 présentent un déficit en **CBS-non-B6-sensible** (patients 11 et 12).

### **b) Groupe 2 : Hyperhomocystéinémies carencielles, n=7.**

Sept enfants ont eu une hyperhomocystéinémie rattachée à une carence vitaminique. L'homocystéinémie médiane dans ce groupe était de 91  $\mu\text{mol/L}$  (Q1 72,5 ; Q3 108,5) avec une valeur maximale de **203**  $\mu\text{mol/L}$ . **Toutes ces hyperhomocystéinémies se sont normalisées après supplémentation vitaminique adaptée.**

Les grandes caractéristiques anamnestiques, biologiques de ces 7 patients sont rapportées dans le Tableau 13.

- 4 patients : carence en B12.
- 3 patients : carence mixte en B9 et B12.

### **c) Groupe 3 : Hyperhomocystéinémies attribuées à une insuffisance rénale terminale**

- **1 patient de 15 ans** : IRC d'origine multifactorielle dialysée depuis l'âge de 10 ans.
- **1 patient de 16 ans** : IRC sur néphropathie glomérulaire dialysée depuis l'âge de 15 ans.

#### d) Hyperhomocystéinémie d'origine indéterminée

- **1 nourrisson de 3 mois** : hospitalisé pour hypotonie avec difficultés alimentaires. On notait dans ses antécédents, un retard de croissance intra-utérin disharmonieux pour lequel un caryotype avait été réalisé, s'avérant normal. Il avait présenté quelques heures après la naissance une détresse respiratoire aiguë nécessitant une oxygénothérapie haut débit. Il existait une microcéphalie et des anomalies morphologiques des extrémités (courtes et creuses avec des pouces en *aductus*). Sur le plan biologique, on notait une anémie macrocytaire, sans carence en vitamine B12 ou B9. L'homocystéinémie était à 58  $\mu\text{mol/L}$  en regard d'une méthionine limite basse à 16  $\mu\text{mol/L}$  (12-27). L'acide méthylmalonique urinaire était augmenté à 16,9  $\mu\text{mol/mmol}$  de créatinine pour une norme inférieure à 5. Recherche génétique d'un déficit en cobalamine : négative. Recherche génétique d'un déficit en MTHFR (l'AMM étant faiblement augmenté) : négative. L'homocystéinémie s'est normalisée sous traitement par HYDROXOCOBALAMINE, acide folinique. Le traitement a pu être interrompu, avec une homocystéine restant dans les normes.
- **1 enfant de 15 ans** : a bénéficié d'un dosage de l'homocystéine suite à la survenue de crises d'épilepsie. L'homocystéinémie était à 60  $\mu\text{mol/L}$  en regard d'une méthionine à 22  $\mu\text{mol/L}$ . Pas de dosage vitaminique retrouvé. Pas d'exploration complémentaire. Le diagnostic de crises psychogènes a été retenu compte-tenu d'un contexte d'anxiété et de conflits familiaux.

Tableau 12. 12 patients pédiatriques avec hyperhomocystéinémie génétique identifiée.

<b>Nouveaux patients</b> diagnostiqués entre 2014 et 2020										
Patient	S	Age début symptômes	Age du diagnostic	Anomalie NFS	HCY	MET	AMM	Clinique	Paraclinique	Génétique
1	M	5 jours	<b>16 jours</b>	Neutropénie Thrombopénie	<b>171</b>	<b>6</b>	<b>927</b>	Difficultés alimentaires Hypotonie Nystagmus	FO normal ERG normal LAF normal	Gène : <b>MMACHC</b> <b>Homozygotie</b> <b>c.271dupA</b>
2	F		<b>Dépistage J3</b>	Neutropénie	<b>210</b>	<b>9</b>	<b>650</b>	Nystagmus Décalage des acquisitions	FO : maculopathie ERG normal LAF normal	Gène : <b>MMACHC</b> <b>Homozygotie</b> <b>c.271dupA</b>
3	M	4 jours	<b>7 semaines</b>	Neutropénie	<b>147</b>	<b>12</b>	<b>873</b>	Hypotonie Plafonnement Difficultés alimentaires Défaillance multiviscérale (choc septique) : <b>décès à 8 semaines</b>	IRM : atrophie cérébrale	Gène : <b>MMACHC</b> <b>Hétérozygotie composite :</b> <b>c.271dupA/</b> <b>c.331C&gt;T</b>
4	M	9 mois (?)	<b>4,5 ans</b>	-	<b>89</b>	<b>15</b>	<b>&lt; 5</b>	Epilepsie Hypertonie Spasticité des membres inférieurs Retard psycho-moteur.	IRM : Atrophie cérébrale diffuse MTHF (LCR): effondré	Gène : <b>MTHFR</b> <b>Homozygote</b> <b>c.1166+5G&gt;A</b>

MET méthionine (norme entre 12 et 25  $\mu\text{mol/l}$  le plus souvent); AMM (norme < 5 mmol/mol creat), FO : fond d'œil, ERG : électrorétinographie, LAF : lampe à fente

**Nouveaux patients** diagnostiqués entre 2014 et 2020 (suite)



Patients	S	Age début symptômes	Age du diagnostic	Anomalie NFS	HCY	MET	AMM	Clinique	Paraclinique	Génétique
5	M	Néonatal	<b>13 ans</b>	-	134	16		Epilepsie partielle hémicorporelle, puis généralisée à 2 ans Hypotonie Retard à la marche Retard psycho-moteur Cécité corticale	IRM : hypersignaux péri-ventriculaires occipitaux	Gene <b>MTHFR</b> : mutations ND
6	F	3 mois	<b>10 mois</b>	Pancytopenie Vit B12 < 0.1 ng/mL Moëlle mégaloblastique	58	15	2352	AEG anorexie cassure SP		Gene <b>GIF</b> <b>Homozygote</b> <b>c.79+1G&gt;A</b>
7	M	?	<b>4,5 ans</b> Dépistage scolaire vision	-	283	463		Luxation cristallin Aspect Marfanoïde Difficulté motricité fine Trouble concentration	IRM : normale	Gène <b>CBS</b> <b>Hétérozygote composite</b> <b>c.253G&gt;A / c.1378A&gt;C</b> <b>NON B6 S</b>
8 Sœur 7	F		<b>14 ans</b> Dépistage familial	-	86	183		Longiligne, arachnodactylie Pas d'aspect marfanoïde complet Scoliose	Bilan ophtalmo : en cours	Gène <b>CBS</b> <b>Hétérozygote composite</b> <b>c.253G&gt;A / c.-85+5G&gt;C #</b> <b>B6 S</b>

ND : non disponible ; MET méthionine (norme entre 12 et 25 µmol/l); AMM (norme < 5 mmol/mol creat).# : pathogénicité inconnue du variant c.-85+5G>C, SP : Staturo-Pondérale

**Patients diagnostiqués antérieurement à 2014 (bilan de suivi sous traitement)**

Patients	S	Age début symptômes	Age du diagnostic	Anomalie NFS	HCY	MET	AMM	Clinique	Paraclinique	Génétique
9	F	4 mois	<b>9 ans</b>	-	111	29	ND	Hypotonie axiale Spasticité Epilepsie Retard psychomoteur majeur	IRM hypersignaux peri-ventriculaires	Gène <b>MTHFR</b> : mutations ND <sup>Y</sup>
10	M	J3	<b>J15</b>	Neutropénie	71 <sup>#</sup>	14	40	Hypotonie Difficulté alimentaire Retard à la marche Retard psychomoteur		Gène <b>LMBRD1 (CbIF)</b> <b>Hétérozygote composite</b> c.515_516delGT / c.980+4_980+7 delAGTA
11	M	?	<b>2 ans</b>	-	290 à 7 ans	468	-	Myopie Luxation du cristallin Aspect marfanoïde Scoliose, genu varum Retard psychomoteur	DMO : limite inférieure de la norme.	Gène <b>CBS</b> <b>homozygote c.526G&gt;A</b> <b>NON B6 S</b>
12	F	?	<b>7 ans</b>	-	90	461	-	Myopie luxation cristallin	ETT: Ballonnement valve mitrale DMO : normale	Gène <b>CBS</b> <b>Homozygote c.969G&gt;A</b> <b>NON B6 S</b>

<sup>#</sup> CbIF : **Bilan initial** : HCY 34 (< 50 !), MET 6, AMM 954 à J15. <sup>Y</sup> Diagnostic sur étude fonctionnelle sur fibroblastes ; MET méthionine (norme entre 12 et 25 µmol/l le plus souvent); AMM (norme < 5 mmol/mol creat), DMO : densitométrie osseuse, ETT : échocardiographe trans-thoracique.

Tableau 13. 11 patients pédiatriques avec hyperhomocystéinémies carentielles (7), IRC (2), non identifiées (2).

Etiologies	Age (mois ou ans)	Homocystéinémie ( $\mu\text{mol/L}$ )	Clinique	Diagnostic	
<b>Carentielles</b>					
- En B12 seule :	4	8 mois	91	Hypotonie, diarrhée chronique, anémie et thrombopénie, atrophie cérébrale diffuse.	Maladie de Biermer maternelle.
		9 ans	116	Anémie macrocytaire.	Syndrome du grêle court.
		1 an	72	Difficultés alimentaire, hypotonie, retard psycho-moteur, aplasie fébrile.	Maladie de Biermer maternelle.
			101	Diarrhée chronique, pneumopathie, aplasie fébrile,.	Suspicion maladie de Biermer maternelle.
- En B12 et B9 :	3	12 ans	203	Thrombophlébite cérébrale à l'âge de 12 ans.	Troubles du comportement alimentaire.
		12 ans	73	Anémie macrocytaire avec thrombopénie.	Maladie de Biermer.
		16 ans	52	TVP du membre inférieur dans un contexte d'immobilisation.	Carence d'apports.
<b>IRC</b>					
2	16 ans	170	Bilan pré-greffe	IRC dialysée depuis moins d'un an, carence profonde en B9.	
		57	Thrombose du greffon et de la FAV	IRC dialysée depuis 5 ans, carence en B6 et B12 normale basse.	
<b>Non connues</b>					
2	3 mois	58	Hypotonie, trouble de la déglutition, anomalies morphologiques des extrémités. Anémie macrocytaire, AMM élevé, méthionine basse.	Recherche déficit en cobalamine négative Recherche MTHFR négative.	
		15 ans	60	Epilepsie	Carence vitaminique non recherchée.



## C. POPULATION ADULTE ( $\geq 18$ ANS, N = 263).

### 1. Services prescripteurs du dosage d'Homocystéine (HCY) pour lequel la valeur plasmatique est $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ .

Ces dosages ont été demandés principalement par les services de neurologie (42%), néphrologie (20%) et de médecine interne (16%) (Figure 12).

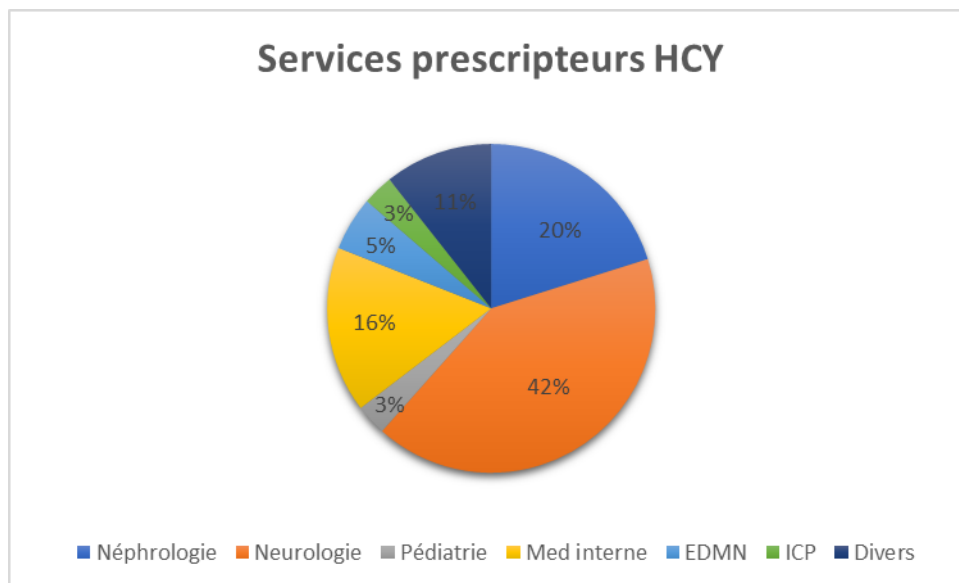


Figure 12 : Principaux services prescripteurs des homocystéinémies<sup>2</sup> \*  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ .

Med interne : médecine interne ; EDMN : endocrinologie, diabétologie, maladies métaboliques, nutrition. ICP : institut cœur poumon. Divers comprend les services : chirurgie vasculaire, cardiologie

---

<sup>2</sup> \* Homocystéine totale plasmatique.

## **2. Description population adulte globale.**

Vous trouverez ci-dessous la description des principaux paramètres de la population adulte. La distribution des variables quantitatives (telles que l'homocystéinémie totale, l'âge, l'IMC, la méthionine plasmatique) et de l'ensemble des variables qualitatives n'étant pas normale, les résultats sont exprimés en médiane (1<sup>er</sup> et 3<sup>ème</sup> quartile) (Tableau 14).

Tableau 14: Description globale de la population adulte.

Population n= 263	Données manquantes n (%)	Médiane (Q1 ; Q3)	Présence du paramètre (%) <sup>‡</sup>
Sexe ratio			H 171(65) / F 92(35)
Age		50 (37 ; 66)	
HCY t*		68 (57 ; 104)	
HCY t > 100 µmol/L			69 (26.2%)
Méthionine (16-29) µmol/L	174 (66 %)	21 (17 ; 28)	
AMM u ** N < 5 mmol/mol creat	225 (85 %)		AMM u élevé : 20/38 (52.6 %)
IRC stade 4 et 5			68 (25.8 %)
Carence (B9 et/ou B12 et/ou B6)	22 (8,3 %)		Carence : 147 (61 %)
Variant MTHFR <sup>‡</sup>	223 (84.7 %)		Présent : 29/39 (74.3 %)
Tabac	6		94 (36%)
Alcool	2		48 (18.4 %)
Diabète	1		40 (15.3%)
IMC	47	24.4 (21.7 ; 27.9)	
HTA	1		113 (43%)
Dyslipidémie	7		105 (41%)

\*Homocystéine totale plasmatique en µmol/L, \*\*AMM u : Acide Méthyl Malonique Urinaire,

<sup>‡</sup>Variant MTHFR : Homozygote Variant C677T, Hétérozygote composite variant C677T/A1298C <sup>‡</sup>sur effectif testé.

### Analyse statistique :

- 1) Il existe une corrélation négative entre l'âge et l'homocystéinémie ( $r = -0,198$ ,  $p = 0,001$ ). Sans les 9 patients pour lesquels l'élévation de l'homocystéine relève d'une cause génétique (cf paragraphe C.4.), la corrélation négative persiste entre l'âge et l'homocystéine ( $r = -0.187$ ,  $p = 0.002$ ).
- 2) Les valeurs d'homocystéinémie ne diffèrent pas selon le sexe, l'IMC, le statut tabagique, la consommation excessive d'alcool, la présence d'un diabète ou d'une dyslipidémie.
- 3) Les sujets hypertendus présentent en revanche des valeurs d'homocystéine moins élevées (médiane 65  $\mu\text{mol/L}$  (54 ; 85)) par rapport aux sujets qui ne le sont pas (73,8  $\mu\text{mol/L}$  (59 ; 120)),  $p < 0,001$ .**
- 4) La comparaison des taux d'homocystéine (médiane) chez les patients IRC stade 4 et 5 n'est pas différente selon que les patients sont hypertendus ou pas (66 (52 ; 79) versus 59 (52 ; 70),  $p = 0.77$ ). En excluant les 68 patients IRC, la comparaison des taux d'homocystéine (médiane) selon que les patients sont hypertendus (64 (56 ; 92.4)) ou pas (79.5 (61 ; 123)) reste significativement différente : les patients hypertendus présentent des valeurs moins élevées ( $p = 0.002$ ).



### 3. Etiologies identifiées, supposées ou non identifiées des hyperhomocystéinémies $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ au sein de la population adulte.

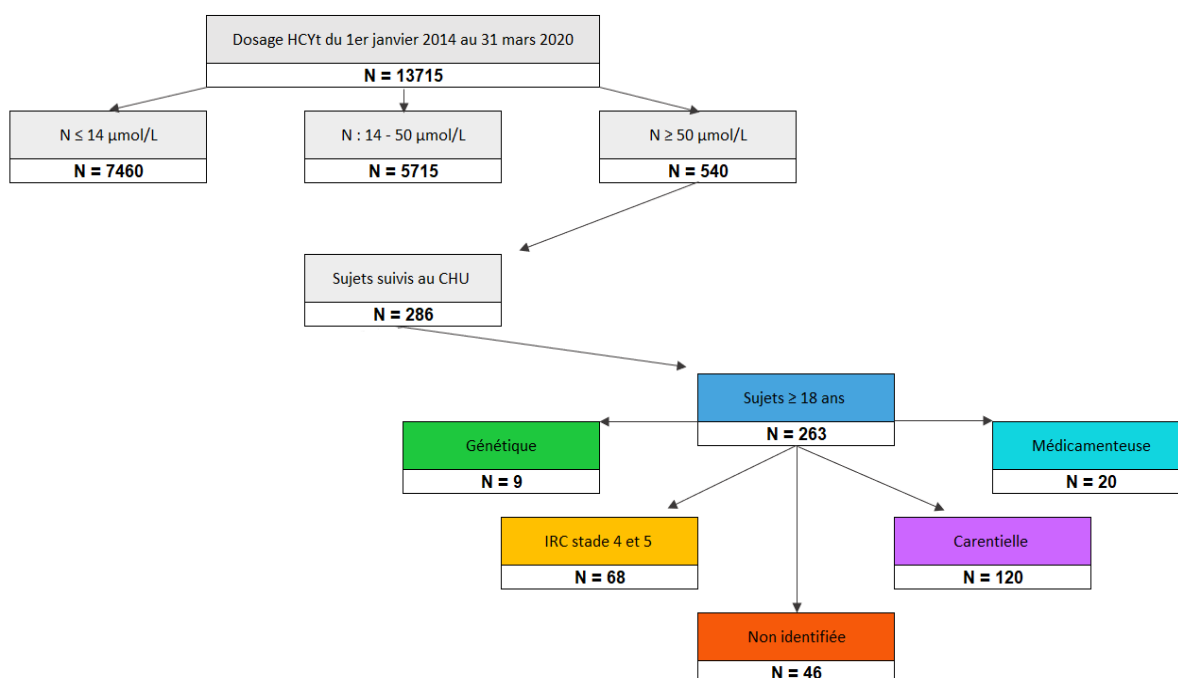


Figure 13 : Etiologies retenues des HyperHCY  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  au sein de la population adulte.

Au sein de cette population, nous avons identifié différents groupes selon la principale cause d'élévation de l'homocystéinémie que l'on pouvait retenir (Figure 13) :

- 1) Le groupe « hyperhomocystéinémie génétique ».
- 2) Le groupe « Insuffisance rénale Chronique » : patients présentant une IRC sévère : stade 4 (débit de filtration glomérulaire inférieur à  $30 \text{ ml/min/1,73m}^2$

selon la formule de MDRD) ou terminale (débit de filtration glomérulaire inférieur à 15 ml/min/1,73m<sup>2</sup> ou dialyse.

- 3) Le groupe « carentiel » : patients présentant au moins une carence en vitamines B9 et/ou en B12 ± associé à une carence en B6 et carence en B6.
- 4) Le groupe « médicamenteux ou par intoxication » : patients sous traitement par L-Dopa dans le cadre d'une maladie de Parkinson, ou intoxication par consommation excessive de protoxyde d'azote (N<sub>2</sub>O).

Les patients ont été répartis au sein de ces groupes selon le caractère dominant de la cause de l'hyperhomocystéinémie : des facteurs d'élévation classiquement modérée de l'HCY (à moins de 50 µmol/L), sont parfois également présents chez ces patients du groupe 1,2,3 ou 4 : facteur environnemental (tabagisme, éthylysme) ou situation médicale favorisante (diabète, hémopathie...).

**5) Le groupe « non identifié »** : il comprend 2 types de patients :

- ceux sans aucun des 4 critères cités et vérifiés. Seuls sont retrouvés des facteurs d'élévation classiquement modérée de l'HCY (à moins de 50 µmol/L) : facteur environnemental (tabagisme, éthylysme) ou situation médicale favorisante (diabète, hémopathie ...).
- ceux par absence de bilan étiologique minimal, c'est-à-dire sans dosage des vitamines B9 et/ou B12.

Tableau 15: Etiologies des HyperHCYs  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  au sein de la population adulte.

		Génétique	IRC (stade 4 & 5)	Carentiel	Médicamenteux Intoxication	Non identifié
N = 263		N = 9	N = 68	N = 120 (45,6 %)	N = 20	N = 46
<b>Age ans, (Q1 ; Q3)</b>	<b>Med</b>	40 (29 ; 42)	64 (49 ; 70,5)	48,5 (36 ; 61,5)	55 (19 ; 69,5)	45 (36 ; 57)
<b>Sexe ratio</b>		3M/6F	42M/26F	75M/45F	14M/6F	37M/9F
<b>HCY (Q1 ;Q3)</b>	<b>Med</b>	143 (64 ; 179)	64 (52 ; 76)	68 (58 ; 113)	80,5 (57,5 ; 133,5)	67 (55,8 ; 98,5)
<b>HCY &gt; 100</b>		6 (66,7%)	9 (13,2%)	35 (29,2%)	8 (40%)	12 (26%)
<b>HCY maximale</b>		310	317	291	201	246
<b>Méthionine** Med (Q1 ; Q3)</b>		82 (66 ; 97)	13 (10 ; 55)	19,5 (16 ; 25)	22 (21 ; 25)	23 (18 ; 29)
<b>DM</b>		1	65	62	17	29
<b>Carence B9 et/ou B12 (ou B6 seul 1 cas)</b>		2/9 (22 %)	11/66 (16.6 %)	120/120	14/20 (70 %)	0/26
<b>DM</b>			2			20
<b>Variant MTHFR ‡</b>		0/1	2/2	18/26	2/2	7/8
<b>DM</b>		8	66	94	18	38
<b>IRC stade 3</b>				4		
<b>Tabac</b>		0	7 (10.3 %)	54 (45.4%)	3 (15%)	30 (65.2%)
<b>DM</b>		0	2	1	0	3
<b>Alcool</b>		0	6 (8.8%)	28 (23.3%)	0	14 (30.4%)
<b>DM</b>		0	0	0	0	2
<b>Diabète</b>		0	24 (35 %)	13 (10 %)	1 (5 %)	2 (4 %)
<b>DM</b>						1
<b>IMC</b>		22.4 (20 ; 27.2)	23.7 (21.6 ; 27.2)	24 (20.8 ; 27.4)	24.3 (19.9 ; 28)	40.5 (24 ; 29)
<b>DM</b>		2	5	24	5	11
<b>HTA</b>		1 (11 %)	45 (66 %)	41 (34 %)	7 (35 %)	19 42 %)
<b>DM</b>						1
<b>Dyslipidémie</b>		2 (25 %)	39 (57.4 %)	39 (33 %)	4 (22%)	21 (47 %)
<b>DM</b>		1		2	2	2

\*HCY : Homocystéine totale plasmatique en  $\mu\text{mol/L}$ , \*\* Méthionine en  $\mu\text{mol/L}$ , ‡ Variant MTHFR : Homozygote C677T, Hétérozygote composite C677T/A1298C DM : données manquantes.

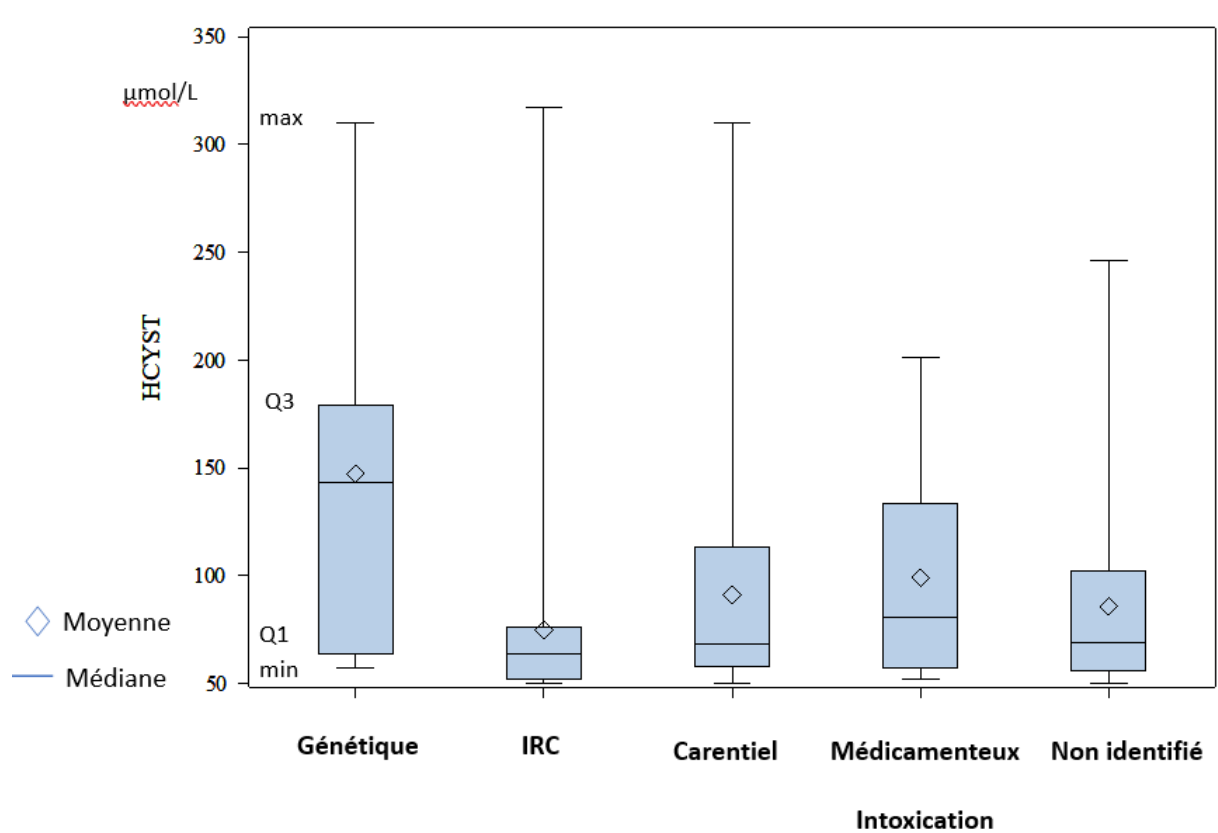


Figure 14 : Distribution des HCY  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  dans la population adulte par groupe étiologique

Analyse statistique :

Il existe une différence significative entre nos 5 groupes étiologiques concernant les valeurs d'homocystéine ( $p = 0,002$ ). Cependant, compte-tenu du faible effectif de nos différents groupes, nous n'avons pu comparer les groupes deux à deux.

a) Groupe « génétique » :  $n = 9$  patients.

Parmi ces 263 sujets, 9 présentaient une maladie métabolique héréditaire responsable d'une hyperhomocystéinémie **dont 4 révélées lors de ce premier**

**dosage d'HCY.** Chez ces 4 patients nouvellement diagnostiqués, l'HCY était toujours supérieure à 100  $\mu\text{mol/L}$ . L'homocystéinémie médiane était de 143  $\mu\text{mol/L}$  (64 ; 179) (Tableau 16).

Les 4 « nouveaux » patients diagnostiqués :

- **Découverte chez 2 patients d'un déficit en CBS-B6-sensible :**
  - **Patiente 1 :** Diagnostic posé chez une jeune femme de 25 ans dans le cadre d'un bilan de thrombophilie réalisé devant une thrombophlébite cérébrale. On notait déjà un antécédent d'embolie pulmonaire sous pilule oestro-progestative à l'âge de 20 ans. Il n'y avait pas d'antécédent ophtalmologique ou neurologique. La patiente ne présentait aucun trouble neurocognitif. L'homocystéine à la découverte était à 310  $\mu\text{mol/L}$ , en regard d'une méthionine à 85  $\mu\text{mol/L}$ . Il n'y avait pas de carence vitaminique associée. L'homocystéine s'est complètement normalisée sous vitamine B6.
  - **Patiente 2 :** Diagnostic posé chez une femme de 42 ans dans le cadre d'un bilan de thrombophilie réalisé devant un tableau d'ischémie aiguë du membre inférieur, évènement survenant sous pilule progestative. On notait un antécédent d'épisode thrombotique artérielle similaire à l'âge de 28 ans sous pilule oestro-progestative (thrombus aortique avec embole poplitée droite). L'homocystéine était 232  $\mu\text{mol/L}$  en regard d'une méthionine à 143  $\mu\text{mol/L}$ . L'homocystéinémie s'est complètement normalisée sous vitamine B6.
- **Découverte de 2 déficits en CBS-partiellement répondeur à la B6 :**

**Patient 3 et patiente 4** : il s'agit de 2 sujets issus d'une même famille (frère et sœur) pour lesquels le diagnostic a été posé suite à un dépistage familial : le patient 3 est le père des cas pédiatriques 7 et 8 du Tableau 16. Le cas princeps est son fils (patient 7 tableau pédiatrique). Les patients 3 et 4, frère et sœur, présentent le même génotype : un variant pathogène connu et un variant (c.-85+5G>C) de pathogénicité inconnue mais susceptible d'entraîner une anomalie d'épissage ou d'expression. Une étude d'épissage (ARNm) est en cours au sein de cette famille. Ce profil génotypique particulier explique peut-être le caractère partiellement répondeur à la vitamine B6 de ces deux patients : baisse de plus de 50% de la vitamine B6 sous traitement mais persistance de valeurs d'HCY entre 50 et 70  $\mu\text{mol/L}$ , nécessitant le recours à un traitement reméthylant.

Les 5 patients antérieurement diagnostiqués et dont l'HCY reste  $\geq$  à 50  $\mu\text{mol/L}$  au cours du suivi. Il s'agit des patients 5, 6, 7, 8 et 9, décrits dans le Tableau 16.

- **Patient 5 et 6** : déficit en CBS non-B6-sensibles.
- **Patient 7** : déficit CBS-B6-sensible
- **Patient 8** : déficit CBS dont la sensibilité à la B6 est incertaine (rupture de suivi).
- **Patient 9** : déficit en Cbl G (test de complémentation lors de l'étude fonctionnelle sur fibroblastes).

Tableau 16 : 9 patients adultes avec hyperhomocystéinémie génétique identifiée.

Nouveaux patients diagnostiqués entre 2014 et 2020										
Patients	S	Age début symptômes	Age du diagnostic	Anomalie NFS	HCY	MET	AMM	Clinique	Paraclinique	Génétique
1	F	20 ans (EP)	25 ans	-	310	85	-	Thrombophlébite cérébrale (TPC) Pas d'aspect marfanoïde, pas de trouble neurologique	IRM : normale en dehors TPC DMO normale	Gène <b>CBS</b> c.833C>T / c.1005_1006delinsT <b>B6 S</b>
2	F	28 ans ischémie subaiguë du membre inférieur droit	42 ans	-	232	143	< 5	Thrombose artérielle aiguë poplitée droite et du tronc tibio-péronier. Pas d'aspect marfanoïde, pas de trouble neurologique	Examen ophtalmologique : N	Gène <b>CBS</b> c.146C>T / c.785C>T <b>B6 S</b>
3*	M	38 ans (suspicion sténose coronaire, non confirmée)	43 ans <b>Dépistage familial</b>	VGM 98 µm <sup>3</sup> (82-98), carence B12 facilement corrigée, pas de Biermer,	157	67		A symptomatique Pas d'aspect marfanoïde, pas de trouble neurologique	Examen ophtalmologique : N	Gene <b>CBS</b> : c.1378A>C / c.-85+5G>C# <b>B6 PR</b>
4 Sœur de 3	F	-	45 ans <b>Dépistage familial</b>		120	61		Asymptomatique Pas d'aspect marfanoïde, pas de trouble neurologique	Examen ophtalmologique : N	Gene <b>CBS</b> : c.1378A>C / c.-85+5G>C# <b>B6 PR</b>

# : pathogénicité inconnue du variant c.-85+5G>C, mais susceptible d'entraîner une anomalie d'épissage ou d'expression. Etude épissage (ARNm) en cours au sein de cette famille.\* Le patient 3 est le père des patients pédiatriques 7 et 8.

MET 16-29 µmol/L; AMM < 5 mmol/mol creat; EP Embolie Pulmonaire; B6 S : Sensible à la B6 ; B6 PR : Partiellement répondeur à la B6.

Tableau 16 (suite) 9 patients adultes avec hyperhomocystéinémie génétique identifiée.

Hyperhomocystéinémies génétiques : bilan de suivi										
Patients	S	Age début symptômes	Age du diagnostic	Anomalie NFS	HCY < 14	MET	AMM	Clinique	Paraclinique	Génétique
5 29 ans	M	2 ans	6 ans	-	64	72	-	Retard des acquisitions, syndrome frontal, Aspect marfanoïde, Pectus excavatum, Pas d'épilepsie.	Ostéoporose Pas de subluxation cristallin	<b>Gène CBS</b> <b>c.43_44delTG</b> <b>c.1058 C&gt;T</b> <b>NON B6S</b>
6 DCD 47 ans	F	12 ans (épilepsie)	40 ans HCY 340 MET 79	VGM 102 µm <sup>3</sup> (82-98), carence d'apport B12+B9	143	79	-	Epilepsie Luxation bilatérale du cristallin opérée à 20 ans TVP + EP à 20 ans Scoliose Décès : mort subite	Ostéoporose FEVG 48 %, VG : Trabéculations inféro-apicales	<b>Gène CBS</b> <b>c.28delG /</b> <b>c.1330G&gt;A</b> <b>NON B6S</b>
7 32 ans	F	22 ans (TPC + TVP M Sup)	22 ans HCY 266 MET 104	-	64	104	-	Asymptomatique Observance TTT aléatoire	Examen ophtalmologique : N	<b>Gène CBS</b> <b>c.785C&gt;T /</b> <b>c.833 T&gt;C</b> <b>B6S</b>
8 47 ans	M	3	6 ans Rupture de suivi	?	179	ND		Retard psycho-moteur, Luxation du cristallin, Aspect marfanoïde,	?	<b>Gene CBS</b> <b>ND</b> <b>Etiqueté B6S</b>
9 DCD 42 ans	F	22 ans (Macrocytose Douleurs M inf)	28 ans HCY 95 MET 13 AMM absent	Hb 12.1 g/dL VGM 127 µm <sup>3</sup> Plaquettes 201000/mm <sup>3</sup>	57	21	< 5	Paraparésie spastique Incontinence anale Altérations cognitives Neuropathies optiques Syndrome néphrotique Biopsie rénale : lésions HSF et glomérulaires. Dialysée à 40 ans, Décès : colite ischémique	IRM : Aspect fin cordon médullaire et leucopathie antérieure, atrophie cortico-sous-corticale.	<b>Etude fonctionnelle sur fibroblastes : déficit CblG</b> Pas d'étude moléculaire

MET 16-29 µmol/L; AMM < 5 mmol/mol de créatinine; EP Embolie Pulmonaire; ND : réalisé mais non disponible ; TVC Thrombophlébite cérébrale, TVP Thrombose veineuse profonde ; M inf : Membres inférieurs ; DCD : décédé.



**b) Groupe « IRC » sévère (stade 4) ou terminale (stade 5) : n = 68.**

Ces sujets avaient un âge médian de 64 ans, étaient principalement de sexe masculin (61 %), hypertendus (66,2 %) et présentaient une dyslipidémie dans plus de la moitié des cas (57,4 %). L'homocystéinémie médiane était de 64  $\mu\text{mol/L}$  (52 ; 76), maximale à 317  $\mu\text{mol/L}$  et 13 patients présentaient une carence vitaminique. Les deux patients présentant une homozygotie pour le variant MTHFR avaient une HCY en deçà de 100  $\mu\text{mol/L}$ .

Neuf patients présentaient une valeur  $\geq$  à 100  $\mu\text{mol/L}$  :

- On retrouvait une carence vitaminique chez 5 de ces sujets (55,5 %).
- Un sujet non carencé était traité par L-Dopa pour une maladie de Parkinson.
- Il existait également des facteurs de risque dits modérés d'élévation de l'homocystéine pour 6 sujets comme le tabagisme, le diabète, l'hypothyroïdie.
- 2 sujets chez ces 68 patients ont bénéficié d'un avis ou consultation métabolique spécialisée avec notamment la recherche pour l'un, d'un déficit en CBS devant une élévation de la méthionine à 55  $\mu\text{mol/L}$ , et pour l'autre d'un du variant MTHFR (homozygotie ou hétérozygotie composite), avec des résultats négatifs dans les 2 cas.
- Un patient présentait une valeur à 317  $\mu\text{mol/L}$ . Ce dosage correspondait à une période en IRC stade 5, avant dialyse et en regard d'une carence en B9. Après correction de la carence et 4 ans après la mise en route de l'épuration,

nous avons pu vérifier que l'homocystéine se maintenait entre 50 et 60  $\mu\text{mol/L}$ . L'évolution de ce patient nous a conduit à maintenir ce patient dans le groupe étiologique IRC. Il n'y a pas eu chez lui de recherche du variant ou autre analyse génétique.

### c) Groupe « carentiel » des Hyperhomocystéinémies, N = 120

- 1) Quasiment la moitié de notre population adulte (120 sujets/263, 45.6%) **présente une hyperhomocystéinémie**. L'HCY médiane était de 68  $\mu\text{mol/L}$ , 35 valeurs étaient supérieures ou égales à 100  $\mu\text{mol/L}$ , soit 29,2% d'entre elles (dont une maximale à 291  $\mu\text{mol/L}$ ).
- 2) **Dans 96% des cas, l'hyperhomocystéinémie est associée à au moins une carence d'une des deux vitamines ayant un rôle majeur dans le cycle de reméthylation (B9 et/ou B12)** (Tableau 17)
- 3) Seulement 4 patients présentaient une carence en B6 mais 3 de ces 4 patients n'ont pas eu de dosage concomitant de la vitamine B9 ou de la vitamine B12 en regard. Parmi ces 4 patients carencés en B6, l'élévation de l'HCY variait entre 59 et 97  $\mu\text{mol/L}$ . La méthionine dosée chez 2 de ces 4 patients n'était pas élevée : 15 mmol/L pour une valeur d'HCY à 97  $\mu\text{mol/L}$ , absence de dosage de la vitamine B12 en regard ; 21 mmol/L pour une valeur d'HCY à 61  $\mu\text{mol/L}$ , sans carence B12 et B9 en regard (dosées) mais en regard d'un tabagisme.
- 4) Parmi les 120 patients de ce groupe carentiel, la méthionine a été mesurée chez 58 d'entre eux (médiane 19.5 mmol/L) : parmi ces 58 patients, l'AMM

urinaire a été dosé 26 fois et présent 14 fois, dont dans 10 cas en présence au moins un déficit en vitamine B12. Dans les 4 autres cas, la vitamine B12 étaient « normale » mais à la limite inférieure de la normale (0.2 ng/ml). Il n'y a pas eu d'exploration génétique demandée chez ces 4 patients (en particulier pas de recherche d'une anomalie du métabolisme des cobalamines).

*Tableau 17 : Répartition du type de carence vitaminique au sein du groupe « carentiel »*

Carences mise en évidence N = 120

**Effectif dosage des vitamines :**

*B6 : réalisé chez 70 patients/120*

*B9 : réalisé chez 114/120*

*B12 : réalisé chez 116/120.*

<b>B12</b>	34 (28 %)
<b>B9</b>	30 (26 %)
<b>B9 + B12</b>	25 (20.8 %)
<b>B6 + B9 + B12</b>	9 (7.5 %)
<b>B6</b>	4 (3.3 %)
<b>(3 DM pour dosage concomitant B9 et/ou B12)</b>	
<b>B6 + B12 et/ou B9</b>	18 (15 %)

DM : Données Manquantes

- 5) On compte 29 patients avec variant MTHFR sur 39 demandes, dont 23 sont homozygotes pour le variant C677T et 6 hétérozygotes composites des deux variants C677T/A1298C. La valeur de la médiane de l'Hcy chez les patients présentant une carence au moins en B9 (B9 ou B9+B12 ou B9+B6 ou

B9+B12+B6) semble plus importante dans le groupe avec « variant MTHFR » que dans le groupe sans variant MTHFR (Tableau 18). En revanche, si on prend les patients connus pour n'être carencés qu'en vitamine B9, la médiane de l'homocystéine semble plus basse chez les patients avec variant MTHFR que chez les patients sans le variant (Tableau 18). Une comparaison statistique n'a pu être réalisée compte-tenu du trop faible effectif des groupes.

*Tableau 18 : Effet « variant MTHFR » sur l'HCY des sujets carencés*

	<b>Carence B9 ou B12+B9 ou B6+B9</b>	<b>Carence B9 ou B12+B9 ou B6+B9</b>
	<b>Variant présent*</b>	<b>Variant recherché et négatif</b>
	<b>N = 14</b>	<b>N = 6</b>
HCY t médiane (Q1 ; Q3)	123 (61 ; 152)	91 (59 ; 125)
	<b>Carence B9 seule</b>	<b>Carence B9 seule</b>
	<b>Variant présent *</b>	<b>Variant recherché et négatif**</b>
	<b>N = 10</b>	<b>N = 3</b>
HCY t médiane (Q1 ; Q3)	92.5 (60.6 ; 141)	125 (101 ; 202)

\*Variant MTHFR homozygotie C677T, hétérozygotie composite C677T et A1298T

**6)** Nous disposons de l'HCY de contrôle pour 59 sujets sous vitaminothérapie : 57 d'entre eux présentaient une amélioration des valeurs sous supplémentation : 28 sujets (47,5 %) ont eu une normalisation de l'homocystéinémie, 29 sujets ont présenté une amélioration dont 23 < à 50 µmol/L. Pas d'amélioration pour 2 patients mais en regard d'une vitamine B12 qui restait non corrigée (supplémentation B12 par voie orale, bilan étiologique non réalisé).

**d) Hyperhomocystéinémie d'origine  
« médicamenteuse ou par intoxication », n = 20.**

Vingt sujets ont présenté une hyperhomocystéinémie supérieure ou égale à 50  $\mu\text{mol/L}$ , dont la première cause supposée de l'élévation est la prise d'un médicament ou d'une substance connus pour interférer avec le métabolisme de l'homocystéine. L'homocystéinémie médiane était de 80,5  $\mu\text{mol/L}$  (57,5 ; 133,5) avec une valeur maximale à 201  $\mu\text{mol/L}$ . Huit dosages étaient supérieurs ou égaux à 100  $\mu\text{mol/L}$ .

**(1) Hyperhomocystéinémie sous lévodopa**

13 sujets étaient suivis pour une maladie de Parkinson traitée par lévodopa. Parmi ces 13 sujets, 11 étaient carencés. Dans ce groupe, l'homocystéine maximale était de 201  $\mu\text{mol/L}$  et on notait 3 valeurs supérieures ou égales à 100  $\mu\text{mol/L}$  :

- Une femme présentant une maladie de Parkinson évoluant depuis 16 ans, présente une hyperhomocystéinémie à 201  $\mu\text{mol/L}$ . Elle était dénutrie et multi-carencée (en vitamine B6, B9 et B12).
- Une femme de 72 ans présente une hyperhomocystéinémie à 123  $\mu\text{mol/L}$  instauré depuis 1 an. Elle présentait une carence en vitamine B6 et les taux de vitamines B9 et B12 étaient à la limite inférieure de la normale.
- Un homme de 50 ans présente un dosage d'homocystéine à 105  $\mu\text{mol/L}$ .

## ***(2) Hyperhomocystéinémie et intoxication au protoxyde d'azote (N<sub>2</sub>O)***

Nous avons pu identifier un groupe particulier composé de 7 sujets dont la cause de l'hyperhomocystéinémie a été retenue liée à une consommation excessive de N<sub>2</sub>O à visée récréative (Tableau 19). Il s'agissait d'individus jeunes, âgés de 18 à 23 ans, principalement de sexe masculin (1F/6H), consommant quotidiennement ou que le week-end des capsules de N<sub>2</sub>O. Aucune co-intoxication (tabagisme, éthylisme ou drogue) n'a été signalée dans les observations médicales. Cinq patients présentaient une valeur plasmatique de la vitamine B12 basse, 2 sujets présentaient des valeurs de vitamine B12 à la limite inférieure de la norme (0,2 ng/mL). A noter, la valeur la plus basse d'homocystéine coïncide avec la plus basse consommation de capsules (Tableau 19). Ces sujets consultaient aux urgences devant une symptomatologie neurologique grave ou invalidante : signes rapportés à un tableau de sclérose combinée de la moëlle (Signes fonctionnels à type de paresthésies des extrémités, faiblesse des membres inférieurs, trouble de la marche et de l'équilibre) associés à un tableau psychiatrique pour l'un deux (délire et hétéro-agressivité). Certains patients ont nécessité une prise en charge spécialisée en rééducation. Seul un patient a eu un dosage d'homocystéine au CHU Lille après l'épisode inaugural (HCY normalisée).

Tableau 19 : Hyperhomocystéinémies dans un contexte d'intoxication au N<sub>2</sub>O.

Age (ans)	Hcyst (µmol/L)	S fonctionnel Tableau SCM*	IRM cérébrale	Nombre de capsules (caps)	Carence	Normalisation
19	153	Ataxie proprioceptive		400 caps/jour	B12	oui
18	123	Ataxie proprioceptive		100 caps/WE	B12	-
19	90	Paresthésies des Membres inférieurs		-	B12 + B9	-
19	144	Tétraparésie		300 caps/WE	B6  B12 limite inf ‡	-
23	164	Paresthésies  Trouble psychiatrique		-	B12	-
18	172	Paresthésies		600 caps/WE	B12	-
19	77	Paresthésies		50 caps/WE	B12 limite inf	-

\*Sclérose Combinée de la Moelle ‡inférieure

### e) Hyperhomocystéinémie d'origine non identifiée, n = 46.

Il s'agit d'un groupe de 46 patients pour lequel nous n'avons pas été en mesure de faire une hypothèse étiologique ou un diagnostic sur les éléments retrouvés dans le dossier du patient :

#### A. Par absence de cause évidente retrouvée (n = 26) chez des patients non carencés et non insuffisants rénaux.

Ces 26 sujets ne présentant pas d'insuffisance rénale, ni de carence vitaminique en vitamine B9 et B12 ou de traitement interférent avec le métabolisme de l'homocystéine. Il existait un tabagisme dans 65,2 % des cas et un éthyisme chronique dans 34,8 % des cas. Dix-sept patients ont eu un dosage de méthionine (médiane 23 mmol/L, (18 ; 29)) Huit d'entre eux ont eu une recherche du variant MTHFR dont 7 ont été positives (homozygotes ou hétérozygotes composites), soit 87% des patients testés) et en regard d'une vitamine B9 normale. Un sujet était diabétique, 2 présentaient une hypothyroïdie et 1 sujet était en cours de traitement pour un cancer.

Parmi ces patients, retenons le cas de deux d'entre eux :

- Patient âgé de 33 ans, ancien éthylique, présentant une hyperhomocystéinémie à 158  $\mu\text{mol/L}$  avec en regard une méthionine normale à 18  $\mu\text{mol/L}$  (16-22) et en l'absence de carence en vitamine B9 et B12. Absence d'élévation de l'AMM urinaire. Ce dosage a été réalisé dans un contexte de trouble du comportement, de syndrome extra-pyramidal et cérébelleux avec une IRM cérébrale anormale. Un traitement par 5-MTHF (Prefolic®) et hydroxocobalamine a permis d'améliorer l'homocystéine, sans la normaliser (52  $\mu\text{mol/L}$ ). L'adjonction d'un traitement reméthylant par bêtaïne a permis en revanche une quasi-normalisation de l'homocystéine (18  $\mu\text{mol/L}$ ). Une recherche génétique d'un trouble de la reméthylation a été demandé (notamment pour les gènes MTHFR, Cbl D- Variant HCY, Cbl G, CblE).
- Patient âgé de 33 ans également, éthylo-tabagique, présentant une hyperhomocystéine à **246**  $\mu\text{mol/L}$  demandée dans un contexte d'infarctus



thalamique. Sur le plan biologique, on observait une macrocytose avec un VGM à 115 fL, sans carence en vitamine B12, et une vitamine B9 à la limite inférieure de la normale. La méthionine en regard était normale basse à 16  $\mu\text{mol/L}$ . Absence d'exploration complémentaire (pas d'analyse génétique, pas de recherche du variant).

**B. Par absence de bilan étiologique minimal, c'est-à-dire sans aucun dosage des vitamines B9 et/ou B12 (n = 20).**

Quinze de ces sujets présentaient un tabagisme actif, 6 une intoxication éthylique chronique et un patient présentait une insuffisance rénale modérée (stade 3). L'homocystéine médiane était de 65  $\mu\text{mol/L}$  (54,3 ; 93) et 5 dosages étaient supérieurs ou égaux à 100  $\mu\text{mol/L}$ .

## **4. Indications de dosage de l'homocystéine et étiologies de l'hyperHCY.**

### **a) Indications et étiologies**

Voici la répartition des étiologies retenues de l'hyperhomocystéinémie, en fonction des 8 grandes indications de dosage (Tableau 20).

Tableau 20 : Indications de dosage au sein des différents groupes étiologiques de l'hyperhomocystéinémie.

Indications	N (%) Indications	Génétique N=9	IRC 4/5 N=68	Carentiel N=120	Médicamenteux Intoxication N=20	Non identifiée N=46
<b>1</b> (Suivi/dépistage)	<b>7 (2.6)</b>	7	0	0	0	0
<b>2 (Thrombose)</b>	<b>99 (37.7)</b>	2	9	58	0	30
Artériel :	54	1	6	25	0	22
Veineux :	37	1	2	27	0	7
Artériel et veineux :	8	0	1	6	0	1
<b>3 (Neuro)</b>	<b>24 (9.2)</b>	0	0	14	6	4
<b>4 (Cognitifs)</b>	<b>40 (15.2)</b>	0	7	29	0	4
<b>5 (Hémato)</b>	<b>10 (3.8)</b>	0	1	9	0	0
<b>6 (Dialyse)</b>	<b>50 (19)</b>	0	50	0	0	0
<b>7 (Traitement L dopa)</b>	<b>13 (4,9)</b>	0	0	0	13	0
<b>8 Divers</b>	<b>20 (7.6)</b>	0	1	10	1	8
D. Carence	14			10	1	3
Bilan CV	6		1	0	0	5

**Légende des différents groupes :**

- 1-Suivi d'une hyperhomocystéinémie génétique connue (n=5) ou dépistage familial (n = 2)
- 2-Survenue d'un événement thrombotique (artériel, veineux, artériel et veineux) (Artériel, Veineux, Artériel et veineux)
- 3-Troubles neurologiques (autres que cognitifs prépondérant)
- 4-Troubles cognitifs
- 5- Retentissement hématologique d'une carence en B9 et/ou B12
- 6- Dialyse
- 7- Surveillance traitement L Dopa
- 8- Divers (Dépistage carence en B12 ou contexte multicarentiel et bilan cardiovasculaire).

Commentaires :

- 1) L'indication de dosage qui arrive en tête est celle des évènements thrombotiques (37.7 % des patients), en particulier artériel (54 patients). Dans cette indication d'évènements thrombotiques, les valeurs élevées de l'homocystéine ont essentiellement été rapportées à une origine carencielle (58 des 99 patients), puis reste sans étiologies retrouvées pour 30 d'entre elles et ont conduit à identifier une origine génétique dans 2 cas.
- 2) Concernant l'indication des troubles cognitifs (15.2 % des patients), la cause de l'élévation de l'homocystéine est essentiellement également rapportée à une origine carencielle, comme celle retrouvée chez les 9.2 % patients pour lesquels les troubles neurologiques ont conduit au dosage d'HCY.

### **b) Homocystéine et évènements thrombotiques.**

La description des évènements thrombotiques ayant conduit au dosage de l'homocystéine et de son contexte clinique sont précisés dans le Tableau 21.

Compte-tenu du caractère rétrospectif du recueil et de la méthode (sur des courriers médicaux), la collecte des données n'a pu être exhaustive et les données manquantes sont nombreuses pour certains de ces items (précisées dans le Tableau 21).

### (1) *Evènements thrombotiques artériels*

Il s'agissait de l'indication la plus fréquente dans notre étude. Cinquante-quatre dosages ont été réalisés dans ce contexte. Il existait un sexe-ratio égal à 2,37 hommes pour une femme. L'âge médian de survenue du premier évènement était de 40 ans (36 ; 52). Quasiment tous les sujets avaient au moins un facteur de risque cardiovasculaire (51 sujets) et 7 sujets avaient une anomalie majeure de l'hémostase connue ou découverte à cette occasion. Dans 27,7 % des cas, il s'agissait d'une récurrence. On notait une atteinte multiple dans 22,2 % des cas. Il s'agissait essentiellement d'AVC ischémique. Six évènements thrombotiques étaient localisés au niveau des membres supérieurs et 3 au niveau digestif (Tableau 21). Selon les compte-rendus médicaux, l'hyperhomocystéinémie seule a été retenue responsable (ou de manière largement prépondérante) de l'évènement thrombotique chez 3 sujets :

- **Patiente 1** : Femme de 37 ans présentant une ischémie étendue du membre supérieur associée à des lésions ischémiques cérébelleuses. Bilan de thrombophilie et recherche de néoplasie négatifs. Mise en évidence d'une HCY à 82 µmol/L dans un contexte multicausal (B9 + B6 + B12). HCY reconstruite à 22 µmol/L après supplémentation.
- **Patiente 2** : Femme de 42 ans chez qui un déficit en CBS-B6-sensible a été découvert devant une récurrence d'ischémie aiguë du membre supérieur (cf paragraphe C.4.a).
- **Patient 3** : Homme de 63 ans ayant fait un AVC ischémique au bilan étiologique complet revenu négatif en dehors d'une HyperHCY à 51 µmol/L attribuée à une carence en vitamine B12 (absence d'exploration complémentaire).

## (2) Evènements thrombotiques veineux

Trente-sept hyperhomocystéinémies ont été découvertes suite à un évènement thrombotique veineux. Six sujets présentaient en plus une anomalie majeure de l'hémostase, 6 étaient obèses. L'âge médian de survenue du premier épisode était de 43,5 ans (28,5 ; 53) et 83,7 % des évènements survenaient avant 55 ans. Dans 40,5 % des cas, il s'agissait d'une récurrence et on observait des atteintes multiples dans 21,6 % des cas. On notait une localisation atypique dans 32,4 % des cas : 6 thromboses digestives, 3 thromboses veineuses cérébrales, 2 occlusions de la veine centrale de la rétine, 1 thrombose veineuse du membre supérieur (Tableau 21). Il n'était pas retrouvé de facteurs de risque de thrombose veineuse en dehors de l'hyperhomocystéinémie dans 11 cas (29,7 %).

Parmi ces 11 cas :

- Localisation atypique = 2 thromboses digestives et 1 thrombose veineuse cérébrale
- Récurrence = 4
- Découverte d'un déficit en CBS-B6-sensible (cf ci-dessous)
- Hyperhomocystéinémie d'origine carencielle (B9 et/ou B12) = 10, dont 4 sujets présentant un variant de MTHFR à l'état homozygote ou hétérozygote composite et 2 recherches négatives

L'homocystéinémie à 310  $\mu\text{mol/L}$  avait été demandée chez une patiente de 25 ans qui présentait une thrombose veineuse cérébrale. Ce dosage révélait un déficit en CBS (cf paragraphe IV.C.3.a).

### *(3) Evènement thrombotiques artériels et veineux*

Certains sujets ont présenté des thromboses dans un territoire artériel et un territoire veineux de manière concomitante (8 sujets).

On peut noter 2 situations où l'hyperhomocystéinémie est vraisemblablement impliquée dans la survenue des évènements thrombotiques :

- Une femme de 49 ans présentant des thromboses artérielles et veineuses des extrémités (membres supérieurs et inférieurs). Elle présentait de multiples carences (vitamine B6, B9 et B12) dans un contexte de troubles digestifs chroniques. L'étiologie de ces multiples thromboses n'a pas été retrouvée. L'HCY était à 152  $\mu\text{mol/L}$ .

- Une femme de 29 ans qui a présenté de manière concomitante un AVC ischémique et une embolie pulmonaire bilatérale. On notait la prise d'une pilule oestro-progestative et une intoxication éthylo-tabagique chronique. Elle présentait une carence en vitamine B9. L'HCY était également à 152  $\mu\text{mol/L}$ .

*Tableau 21 : Caractéristiques des évènements thrombotiques*

	Evènement thrombotique artériel N = 54	Evènement thrombotique veineux N = 37	Evènement thrombotique artériels et veineux N = 8
Homocystéinémie (µmol/L)	71 (55 ; 102)	70 (50 ; 125)	94,5 (80 ; 145)
Age	44,5 (28 ; 53,75)	44 (31 ; 20)	48,5 (32,8 ; 29)
Sexe	38H / 16F	24H / 13F	5H/3F
Anomalie majeure de l'hémostase	7	6	2
Facteurs de risque	51	21 (DM : 1)	5
- HTA	29	9 (DM : 1)	1
- Diabète	2	2 (DM :1)	1
- Dyslipidémie	26 (DM : 1)	9 (DM :1)	3
- IMC ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	9 (DM : 15)	6 (DM : 6)	2 (DM : 1)
- Tabagisme	41 (DM : 2)	17 (DM : 1)	4
Evènement provoqué		0	
Age du 1 <sup>er</sup> évènement	40 (36 ; 52)	43,5 (28,5 ; 53)	48,5 (31,3 ; 57,5)
- avant 55 ans	45	31	5
Récidive	15	15	5
- Sous anticoagulant	-	5	1
Territoire multiple	12	8	8
Localisation :			
- TSA			
○ AVC / TVC	38	3	2
○ Membres supérieurs	6	1	2
○ OACR / OVCR	0	2	0
- Membres inférieurs	9	7	4
- Embolie pulmonaire	-	6	
- Embolie pulmonaire et Membres inférieurs	-	16	2
- Digestive	3	6	1
<b>Hyperhomocystéinémie considérée en grande partie responsable de l'évènement.</b>	<b>3</b>	<b>11</b>	<b>2</b>
DG génétique	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0</b>

DM : données manquantes ; HTA : hypertension artérielle ; IMC : indice de masse corporelle ; TSA : troncs supra-aortiques ; AVC : accident vasculaire cérébral ; TVC : thrombose veineuse cérébrale ; OACR : occlusion de l'artère centrale de la rétine ; OVCR : occlusion de la veine centrale de la rétine.

Après avoir exclu les 16 patients connus pour une anomalie majeure de l'hémostase et après imputation des valeurs manquantes :

- 1) comparaison des valeurs d'homocystéinémie entre patients avec évènement thrombotique « artériel » et ceux sans évènements thrombotiques artériel : pas de différence significative ( $p = 0.088$ ). Après ajustement à certains FDR connus d'évènements thrombotiques artériels (Age, sexe, tabagisme, diabète, dyslipidémie et HTA), la comparaison reste non significative ( $p = 0.10$ ).
- 2) comparaison des valeurs d'homocystéine entre patients avec évènement thrombotique « veineux » et ceux sans évènements thrombotiques veineux : pas de différence significative ( $p = 0.053$ ). Après ajustement à certains FDR connus d'évènements thrombotiques veineux (Age, sexe, tabagisme), la comparaison reste non significative ( $p = 0.09$ ).
- 3) Comparaison des valeurs d'homocystéine entre patients avec tout évènement thrombotique « artériel, veineux, artériel et veineux » et ceux sans évènements thrombotiques : différence significative ( $p = 0.008$ ) qui persiste après ajustement sur les facteurs de risque (âge, sexe, IMC, tabagisme, diabète, dyslipidémie, HTA) ( $p = 0,015$ ). L'homocystéinémie est plus élevée chez les patients ayant eu un évènement thrombotique.
- 4) **Effet de l'hyperhomocystéinémie sur la survenue d'un évènement thrombotique**

Après ajustement sur les variables décrites dans la littérature comme facteurs de risque de survenue d'évènement thrombotique artériel (âge, sexe, tabac, diabète,



dyslipidémie, HTA) et veineux (âge, sexe, tabagisme, IMC), et après imputabilité des données manquantes :

- Une augmentation de 10 µmol/L de l'homocystéinémie augmente le risque de survenue d'un évènement thrombotique de 1,0783 (OR = 1,078, 1,015 – 1,146, p = 0,015).
- Cet effet ne diffère pas entre une valeur de l'homocystéinémie  $\geq$  à 100 µmol/L et celle entre 50 et 100 µmol/L.

### c) Indications « troubles cognitifs ».

Parmi nos 263 dosages, 40 (15,2 %) ont été demandés dans le cadre d'une consultation au centre de la mémoire et d'expertise cognitive du CHU de Lille. Ces sujets étaient principalement carencés (29 sujets sur 40, soit 72,5 %). Il n'a pas été conclu à une relation de cause à effet entre le tableau clinique des patients et les taux d'homocystéine.

### d) Indications « troubles neurologiques autre que cognitifs prépondérants »

Pour 24 sujets (9 %), nous avons retenu une indication neurologique, autre que l'exploration de troubles cognitifs, au dosage de l'homocystéine totale plasmatique.

- Exploration d'une **épilepsie** chez des 3 sujets jeunes (< 30 ans) présentant d'autres atteintes : antécédents de thrombose veineuse, syndrome

cérébelleux.

- Explorations de **troubles de la marche** (n = 13) avec paresthésies (n = 4) ou anomalies à l'imagerie (lésions ischémiques, leucopathie, atrophie cérébelleuse) (n = 3)
- **Paresthésies** isolées (n = 2)
- **Encéphalopathie** avec tétraparésie pour un sujet
- **Troubles du comportement** depuis l'enfance avec retard mental (n = 1) ou syndrome cérébelleux et extra-pyramidal (n = 1)

Les hyperhomocystéinémies dans ce groupe d'indications étaient étiquetées :

- carencielles dans la majorité des cas (14 cas/24)
- « iatrogènes » (6 sujets sur 24 correspondants à 6 des 7 patients avec intoxication au N<sub>2</sub>O)
- non identifiée dans 4 cas

Sur ces 24 patients, 6 ont bénéficié d'un avis spécialisé avec explorations métaboliques complètes concernant l'hyperhomocystéinémie, concluant à 5 hyperhomocystéinémies carencielles (un des patients a bénéficié d'une recherche génétique d'un trouble de reméthylation (résultat négatif)). Pour un patient, une analyse génétique à la recherche d'un trouble de la reméthylation a été demandée. Les résultats sont en cours. L'hyperhomocystéinémie a été classée d'origine « indéterminée ». Quatre patients n'ont pas été explorés sur le plan de l'hyperhomocystéinémie dont deux malgré un tableau clinique compatible avec une

éventuelle étiologie génétique (troubles neurologiques et antécédent de thrombose veineuse). Concernant le patient avec encéphalopathie et tétraparésie, l'homocystéine était à 121  $\mu\text{mol/L}$  et s'est corrigée après supplémentation vitaminique. Le tableau clinique a été rapporté à la carence en B12 (sclérose combinée de la moëlle) et l'encéphalopathie à une origine multifactorielle (hyponatrémie...).

A la lecture des courriers et chez aucun des patients, il n'a pas été conclu à une relation de cause à effet entre le phénotype clinique et l'élévation de l'homocystéine. Tout au plus, un effet participatif au tableau neurologique a été suggéré.

## V. DISCUSSION

Parmi les dosages d'homocystéine totale plasmatique (HCY, normes < 14  $\mu\text{mol/L}$ ) réalisés au sein du service de biologie du CHU de Lille sur une période de 6 ans, 4% des valeurs sont  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ , correspondant aux 286 patients de notre étude. Ce seuil de 50  $\mu\text{mol/L}$  a été choisi car considéré comme celui à risque d'apparition de complications thrombotiques parmi les patients avec hyperhomocystéinémie (hyperHCY) génétique (2,5). C'est aussi en pratique le seuil à partir duquel l'identification de la cause de cette élévation est souhaitable, en particulier pour éviter les conséquences néfastes de l'hyperHCY (thrombotique, neurologique). Parmi ces 286 patients, le nombre d'enfants est faible (23) comparé à celui des adultes (263), mais une origine génétique à l'hyperHCY concerne la moitié d'entre eux, contre seulement 3,4 % des patients adultes. Le risque de présenter une carence vitaminique, une insuffisance rénale ou une interférence médicamenteuse est plus élevé chez les adultes, ce qui explique en grande partie ces résultats, mais pas complètement. En effet, les hyperHCY chez l'enfant sont d'une part classiquement d'origines carencielles ou génétiques (avec des symptômes le plus souvent précoces voire très précoces) (19), et font d'autre part l'objet d'une démarche diagnostique plus ciblée et complètes que chez les 263 adultes : parmi les enfants, 96% ont bénéficié d'une recherche d'une carence vitaminique, 100% d'une chromatographie des acides aminés plasmatiques (méthionine) et 98% d'un dosage d'AMM urinaire contre respectivement 91,7 %, 44% et 15% chez les patients adultes.

### ***Hyperhomocystéinémies génétiques***

Chez les enfants, les déficits en cobalamine C représentent la cause la plus

fréquemment diagnostiquée sur les 6 dernières années (3 cas), suivis par celle des déficits en MTHFR (2 cas), des déficits en CBS (2 cas) et d'un déficit en GIF. Jusqu'il y a quelques années, la proportion des diagnostics génétiques se partageait à 80% environ pour le déficit en CBS, 15% pour celui en MTHFR et 5% pour le déficit des cobalamines. Du fait de l'amélioration des connaissances de ces pathologies et de l'élargissement du panel des diagnostics moléculaires, le registre européen (European Network and REgistry for Homocystinurias and Methylation Defects, E-HOD) a fait par récemment d'une répartition différente au sein des patients avec troubles de reméthylation : parmi 238 patients, 67,6 % ont un déficit en Cobalamine C (161/238) et 21 % un déficit en MTHFR (50/238) (37). Parmi les déficits en cobalamine, le déficit de type C est le plus fréquemment décrit (5,37) et survient de manière précoce (âge médian des 1ers symptômes de 21 jours), ce qui corrobore les données parmi les enfants de notre étude. L'âge médian des 1<sup>er</sup> symptômes d'un déficit en MTHFR est un peu plus tardif que dans le déficit en Cobalamine C (3 mois) et 32% des patients MTHFR présentent une forme d'apparition tardive (> 12 mois), ce qui correspond à 2 de nos 3 patients pédiatriques avec déficit en MTHFR diagnostiqué entre 4 et 13 ans. Le retard diagnostique était de plus de 10 ans pour l'un d'entre eux, sans doute du fait de troubles neurologiques peu ou pas spécifiques de cette étiologie et d'une connaissance moins large de ces pathologies rares il y a encore quelques années. Concernant le déficit en CBS (homocystinurie classique), il reste comme attendu un peu plus fréquent dans la population pédiatrique, avec les formes B6-non-sensibles un peu sur-représentées par rapport aux formes B6-sensibles du fait des patients antérieurement diagnostiqués à la période de recueil et qui gardent une homocystéine élevée au-delà de 50 µmol/L au cours de leur suivi.

L'incidence de cette pathologie sera probablement revue à la hausse dans les prochaines années puisque en raison de son caractère grave mais traitable, le dépistage de l'homocystinurie classique fera prochainement partie du programme national de dépistage néonatal en France (36), comme c'est déjà le cas dans de nombreux pays. Sa révélation brutale et parfois fatale par un évènement thrombotique devrait donc disparaître ou devenir anecdotique. Soulignons que d'autres pathologies extrêmement rares ont été mises en évidence parmi les enfants (un déficit en Cbl F et un déficit congénital en facteur intrinsèque d'une prévalence < 1 000 000).

Parmi les 7 patients adultes symptomatiques (donc hors dépistage), 4 d'entre eux ont été diagnostiqués à l'âge adulte du fait d'un évènement thrombotique (déficit en CBS), avec un retard diagnostique pour d'entre eux allant de 5 à 28 ans après l'âge du 1<sup>er</sup> symptôme. Ces histoires cliniques sont finalement assez similaires avec les cas rapportés dans la littérature, notamment dans le délai diagnostique (2). Enfin, une présentation neurologique et hématologique a conduit au diagnostic de déficit en CblG, bien que le taux d'homocystéine ne soit d'ailleurs pas très élevé (95 µmol/L). C'est le deuxième cas « adulte » rapporté dans la littérature (38), plus de 20 ans après celui d'une jeune femme de 21 ans (39).

### ***Données globales de la population adulte***

Parmi la population de patients adultes, l'HCY apparaît corrélé à l'âge mais inversement, même si on exclue les 9 patients (jeunes) avec hyperHCY génétiques. Notre population est très hétérogène de par les mécanismes de l'hyperHCY et nous n'avons pas trouvé d'explications à ce résultat. La corrélation entre l'âge et l'HCY est positive dans les études épidémiologiques mais qui ne portent que sur des valeurs

normales d'HCY (< 14  $\mu\text{mol/L}$ ) ((40,41)).

Dans notre étude, les valeurs d'HCY  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  ne diffèrent pas selon le sexe, le poids, le statut tabagique, la consommation excessive d'alcool, la présence d'un diabète ou d'une dyslipidémie, comme attendu puisque ça n'est dans la littérature que pour des valeurs d'hyperHCY modérée et en particulier < 30  $\mu\text{mol/L}$  que l'âge, le sexe masculin, le diabète, le tabac et l'alcool sont statistiquement associés à une élévation de l'HCY (19,42). On note enfin une proportion plus importante de sujets masculins au sein de notre population adulte, ce qui s'explique au moins en grande partie du fait que la majorité des patients sont de sexe masculin dans le groupe des patients « IRC », dans celui « médicamenteux/intoxication » (patients parkinsoniens, patients avec conduite addictive vis-à-vis du  $\text{N}_2\text{O}$ ), et parmi les patients explorés en raison d'un événement thrombotique. Ce sexe-ratio est donc sans surprise par rapport aux données de la littérature (43,44) Le sexe ratio masculin prédomine également dans le groupe carenciel, possiblement du fait de la prévalence de l'éthylisme chronique, statistiquement plus fréquent chez les hommes.

### ***HTA et homocystéine***

Nous avons été surpris de retrouver des valeurs d'HCY significativement plus élevées chez les sujets normotendus que chez les sujets hypertendus, même après exclusion des 68 patients insuffisants rénaux dont 66 % sont hypertendus et 73 % dialysés. Il est retrouvé dans la littérature une association entre l'homocystéinémie et l'hypertension artérielle (45), qui suggèrent que l'hyperhomocystéinémie serait un facteur de risque indépendant de survenue (46). Elle favoriserait le développement de l'hypertension artérielle en modifiant l'élasticité de la paroi vasculaire et en altérant les mécanismes de vasodilatation-NO-médiés via l'augmentation du stress

oxydatif (47). Ces études ont toutefois portées sur des sujets présentant des valeurs d'HCY modérées (< 30 µmol/L). Nous n'avons pas retrouvé d'explication pour ce phénomène au sein de notre population.

### ***Insuffisance rénale et Hyperhomocystéinémie***

L'insuffisance rénale de stade 4 et 5 est un gros « pourvoyeur étiologique » des hyperHCY puisqu'elle concerne 68 patients adultes. Cependant, seuls 16 d'entre eux (23,5 %) ont bénéficié de ce dosage pour des raisons cliniques (dont 9 pour un évènement thrombotique). Tous les autres dosages ont été réalisés soit dans le cadre d'un bilan pré-greffe, soit surtout chez les patients dialysés puisque l'HCY a été utilisée transitoirement comme indicateur de la qualité de la membrane de dialyse lors de l'épuration extra-rénale. L'HCY ayant été considérée il y a une quinzaine d'années comme un facteur de risque cardiovasculaire, plusieurs études se sont intéressées aux sujets dialysés, particulièrement à haut risque cardiovasculaire. Les études interventionnelles visant à diminuer les taux d'homocystéine grâce à une supplémentation vitaminiques, n'ont pas eu de bénéfices sur la morbi-mortalité cardiovasculaire et le dosage de l'HCY n'a actuellement plus sa place dans le suivi des patients insuffisants rénaux, dialysés ou non (48,49). De même, chez les patients ayant eu une greffe rénale, l'HAS a émis des recommandations : il n'a pas été prouvé que la normalisation ou la diminution de l'homocystéine plasmatique s'accompagnait d'une réduction du risque cardiovasculaire. Il n'est donc pas actuellement recommandé de doser l'homocystéinémie chez les patients transplantés rénaux » (50). Il a également été démontré que l'hyperhomocystéinémie modérée n'était pas un facteur prédictif de perte du greffon (51).



### ***Carences vitaminiques et hyperhomocystéinémie***

Avec les causes génétiques, les causes carencielles de l'hyperHCY sont classiques chez les enfants. Dans notre étude, celles survenant durant la première année de vie s'inscrivaient dans un contexte d'allaitement maternel carencé lié à une maladie de Biermer maternelle suspectée ou confirmée. Ces situations aux conséquences parfois dramatiques soulignent l'importance de mener l'enquête étiologique d'une anémie, même si son caractère physiologique en fin de grossesse rend difficile le repérage d'un statut inapproprié. La macrocytose doit être repérée. En pratique, une numération sanguine est réalisée au cours du 3<sup>ème</sup> trimestre de la grossesse mais celle du début de grossesse n'est pas obligatoire, seulement fortement recommandée par les sociétés savantes (CNGOF). Un dépistage d'une carence en vitamine B12 chez les patientes à risque (régime végétarien..) est conseillé. Surtout, si la voie choisie de supplémentation d'une éventuelle carence en vitamine B12 est orale, il est impératif de vérifier son efficacité par mesure de la vitamine B12 plasmatique et envisager rapidement la voie parentérale si nécessaire. Une des mères allaitante d'un enfant carencé en B12 (tableau neurologique grave) présentait elle-même une carence en B12 supplémentée par voie orale mais en vain en raison d'une maladie de Biermer diagnostiquée secondairement.

Dans notre population adulte, l'origine carencielle représente l'étiologie la plus fréquente des hyperHCY  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$ , rejoignant ainsi certaines données de la littérature (1,19). Notons que parmi ces patients carencés en B9 et/ou B12, la porte d'entrée diagnostique motivant le dosage d'HCY a d'abord été celle d'un accident thrombotique dans la moitié des cas, la survenue de troubles neurologiques chez 14 patients et le bilan pour troubles cognitifs chez 29 patients.

Parmi ces 120 patients carencés, il y a eu un avis spécialisé métabolique sollicité chez presque 50 % d'entre eux. Devant une valeur particulièrement élevée de l'HCY dans certains cas (au maximum 291  $\mu\text{mol/L}$ ) et alors que la carence paraissait modeste par rapport au niveau de l'hyperhomocystéinémie, une recherche génétique d'un trouble de reméthylation a été demandée dans 5 cas, sans finalement mettre en évidence une anomalie génétique. L'homocystéine s'est corrigée sous traitement.

### ***Utilité de la recherche d'une homozygotie ou hétérozygotie composite pour un Variant MTHFR***

La fréquence des variants du gène MTHFR varie selon l'origine ethnique, estimée en Europe entre 24 et 64 % pour le variant C677T, et un peu moins pour le variant A1298C (52,53) L'homozygotie pour le variant C677T est en moyenne de 10 à 15 % dans la population caucasienne nord-américaine et à plus de 25 % dans la population hispaniques (54). Elle est responsable d'une baisse modérée (30 à 35 %) de l'activité enzymatique de l'enzyme MTHFR, vraisemblablement dans les mêmes proportions pour les profils d'hétérozygotie composite des deux variants C677T/A1298C. La présence de ce profil génotypique qu'on a appelé « variant MTHFR » dans notre étude est potentiellement responsable d'une élévation mais seulement modérée de l'homocystéinémie (< 50  $\mu\text{mol/L}$ ), surtout s'il existe une carence en folate. Dans notre étude, le statut « variant MTHFR » a été recherché 39 fois, dont 26 fois parmi les 120 patients du groupe étiologique « carencé », dans le but d'identifier un facteur aggravant à l'hyperHCY. Le faible effectif des patients ne nous a pas permis de conclure sur un éventuel effet variant sur les valeurs d'HCY. La pertinence de son indication à le rechercher en tant que facteur aggravant de l'hyperHCY chez les patients carencés en vitamines reste discutable. En effet, après

normalisation de l'hyperHCY sous supplémentation vitaminique, nous proposons de vérifier régulièrement que les vitamines B12 et B9 restent normales, et ce indépendamment de la présence ou non du variant MTHFR. Enfin, on rappelle que sa présence ne constitue pas un FDRCV en soi et sa recherche n'est plus recommandée dans cette indication.

### ***Hyperhomocystéinémie et intoxication au protoxyde d'azote***

L'hyperHCY liée à la consommation de protoxyde d'azote en France et en particulier dans notre région est de plus en plus préoccupante du fait de la sévérité des atteintes neurologiques qu'elle engendre. Sept patients ont présenté une hyperHCY au-delà de 50  $\mu\text{mol/L}$ , dont le dosage avait été demandé devant un tableau neurologique évocateur d'une carence en B12 ou d'une hyperhomocystéinémie.

Les effets récréatifs du  $\text{N}_2\text{O}$  sont connus de longues dates (depuis le 18<sup>ème</sup> siècle) mais on constate un gain de popularité ces dernières années surtout chez les gens jeunes, lié notamment à son faible coût, son accessibilité, et sa faible durée d'action (55,56). Son utilisation chronique ou excessive induit des complications neurologiques et hématologiques en lien avec un déficit fonctionnel en cobalamine. En effet, Le  $\text{N}_2\text{O}$  altère la méthyl-cobalamine (Me-B12), forme active de la vitamine B12, via l'oxydation de l'ion cobalt. Il existe donc une altération des processus de méthylation (d'où l'hyperhomocystéinémie) qui peut entraver les processus de synthèse des gaines de myéline. Les concentrations sériques de vitamines B12 peuvent être diminuées (comme chez 6 des 7 patients de notre étude) ou normales (57) Un des premiers signes cliniques liés à une intoxication au  $\text{N}_2\text{O}$  est la survenue de paresthésies des extrémités ou d'une ataxie, avec un tableau évoluant vers une sclérose combinée de la moëlle(56,57), ce qui correspond au phénotype des patients

que nous avons décrit. D'autres atteintes neurologiques peuvent se voir (neuropathie périphérique, dysautonomie...). Des troubles psychiatriques ont également été décrits, ce qui était également le cas chez un de nos patients. Des décès ont également été rapportés dans la littérature en raison d'un effet pro-arythmogène par son effet hypoxémiant (55,57). En pratique chez les 7 patients concernés, l'atteinte clinique était clairement rapportée à la carence en B12 mais l'élévation de l'homocystéine (172  $\mu\text{mol/L}$  chez l'un deux) a pu participer au tableau neurologique.

### ***Survenue d'un évènement thrombotique***

Dans la littérature, le risque de survenue d'une complication thrombo-embolique apparait dans les hyperHCY génétiques au-delà de 50  $\mu\text{mol/L}$  et surtout au-delà de 100  $\mu\text{mol/L}$ . (2,5). Sur les 6 dernières années, les patients pédiatriques qui présentent une hyperHCY d'origine génétique n'ont pas présenté d'accident thrombotique, même en regard de valeurs élevées (jusqu'à 290  $\mu\text{mol/L}$ ). En revanche, on note 3 épisodes thrombotiques chez les enfants carencés ou insuffisants rénaux mais dont un seul évènement (thrombophlébite cérébrale) a été rapporté à la seule hyperHCY (203  $\mu\text{mol/L}$ ). Contrastant avec les enfants, la survenue d'un évènements thrombotiques constitue chez l'adulte la 1ère indication de dosage (37,7 % des patients). L'hyperHCY dans cette indication a été rapportée à une origine carencielle dans plus de la moitié des cas (58 %) et a conduit à un diagnostic d'hyperHCY génétique dans 2 cas : thrombophlébite cérébrale survenant 5 ans après une embolie pulmonaire (HCY à 310  $\mu\text{mol/L}$ ), thrombose artérielle aiguë survenant 14 ans après un évènement quasi-similaire (HCY à 232  $\mu\text{mol/L}$ ). Parmi les autres patients adultes par déficit en CBS, la majorité ont présenté un événement thrombotique veineux, rejoignant les données de la littérature où les thromboses

veineuses semblent plus fréquentes que les thromboses artérielles chez ces patients. Soulignons que la cause de l'hyperHCY n'a pas été identifiée parmi 30% des patients ayant présenté un événement thrombotique (carence non recherchée ou bilan métabolique incomplet).

Les événements thrombotiques contemporains d'une hyperHCY  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  sont survenus à un âge médian de 44 ans, tant pour les événements artériels que veineux, avec une prédominance masculine très nette. Le nombre d'événements thrombotiques artériels est plus important que celui veineux dans notre étude car c'est essentiellement dans le cadre d'un bilan d'AVC dans le territoire artériel que l'HCY a été demandée parmi nos patients. Sur le plan veineux, ce sont bien les événements graves (embolie pulmonaire) qui ont le plus motivé le dosage de l'HCY, en tout cas pour ceux dont la valeur est  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ .

A la lecture des courriers spécialisés et en dehors des 2 cas chez qui le dosage a révélé une cause génétique, la responsabilité très prépondérante de l'hyperHCY dans la survenue d'un événement thrombotique apparaît chez 14 patients (dont 11 accidents veineux). Dans les autres cas, l'hyperHCY n'a pas été considérée comme responsable, mais tout au plus participative dans certaines situations. Néanmoins, après analyse statistique, l'HCY apparaît significativement plus élevée chez les patients présentant un accident thrombotique (comprenant les événements artériels, veineux, artériel et veineux) par rapport au reste de la population qui n'en présente pas, même après ajustement sur les facteurs de risque. De plus, au-delà de  $50 \mu\text{mol/L}$ , il a été retrouvé au sein de la population adulte qu'une augmentation de  $10 \mu\text{mol/L}$  de l'HCY majorait le risque de survenue d'un événement thrombotique (artériel et veineux confondus).

### ***Hyperhomocystéinémie et atteinte neurologique***

Parmi les 24 patients chez qui le dosage de l'HCY homocystéine a été demandé devant des troubles neurologiques (9,2% des indications), l'élévation de l'HCY n'a finalement pas été retenue comme responsable du phénotype clinique, à la lecture des courriers médicaux. Sur le plan étiologique, une origine carencielle à cette hyperHCY a été identifiée dans la majorité des cas (14 cas/24), puis celle par intoxication (N<sub>2</sub>O) et est restée non identifiée chez 4 patients (absence d'exploration métabolique). Concernant les troubles cognitifs, ils représentent 15.2 % des indications de dosage de l'HCY, essentiellement lorsqu'ils sont précoces ou en cas de point d'appel morphologique pour une leucopathie inexplicée. Une cause carencielle à l'hyperHCY a été très majoritairement retrouvée mais l'HCY n'a pas été évoquée comme responsable du tableau clinique. Dans la littérature, l'hyperhomocystéinémie modérée est considérée comme un facteur de risque de déclin cognitif et de démence (58). De nombreuses études épidémiologiques retrouvent une association entre une élévation modérée (< 30 µmol/L) de l'homocystéine et la survenue de troubles cognitifs indépendamment du statut vitaminique. Les études expérimentales visant à réduire les taux d'homocystéine par une vitaminothérapie afin de ralentir le déclin cognitif sont contradictoires et manquent de robustesse (59,60). Un consensus d'experts recommande néanmoins de dépister systématiquement une hyperhomocystéinémie dans les centres de la mémoire et de débiter une supplémentation en vitamines B9 et B12 en cas d'élévation au-dessus de 13 µmol/L, ce qui impliquerait de doser l'HCY chez tous les patients présentant un déclin cognitif (58). Cette attitude, tant pour le dosage systématique de l'HCY que pour le traitement vitaminique des hyperHCY modérées

n'est actuellement pas retenue pertinente et convaincante par la plupart des équipes. Enfin, chez les patients dont l'étiologie de l'hyperHCY n'a pas été identifiée alors même qu'une carence vitaminique a été écartée, nous n'avons pas regardé s'il existait une macrocytose qui pourrait orienter vers un trouble des cobalamines. Ce point fera l'objet de vérification. La collaboration qui s'organise entre cliniciens métaboliciens et neurologues devrait sans doute à l'avenir permettre d'élucider les mécanismes de ces hyperHCY et identifier leur retentissement clinique. Le rarissime déficit en Cbl G diagnostiqué il y a un peu moins de 10 ans en est l'exemple.

### ***Limites***

La principale limite méthodologique de cette étude est liée à son caractère rétrospectif et à la méthode de recueil de données cliniques réalisée par lecture des courriers médicaux, sans doute moins complets que la lecture de l'observation médicale elle-même (dossier papier). Le caractère informatif de notre étude est en particulier limité chez les patients dont l'indication de dosage a été portée du fait d'un contexte neurologique : le détail des éléments sémiologiques et paracliniques (notamment l'imagerie cérébrale) confrontés à la valeur de l'homocystéine pourrait redéfinir les liens de causalité entre le phénotype clinique et l'hyperHCY. Les résultats de cette étude invitent d'ailleurs à faire le projet d'une étude collaborative et prospective avec l'équipe de neurologie.

## CONCLUSION

Sur une période de 6 ans, notre travail a permis d'identifier 286 patients chez qui le dosage d'homocystéine totale plasmatique s'est révélé être  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ , avec une proportion très majoritaire du nombre de patients adultes. Alors que l'origine génétique concerne la moitié des patients pédiatriques, elle n'est identifiée que chez 3.4 % des patients adultes. C'est l'origine carencielle des hyperHCY qui est prépondérante chez les patients adultes et les hyperHCY sont principalement mises en évidence dans le cadre du bilan étiologique de certains évènements thrombotiques, de troubles cognitifs ou de troubles neurologiques divers. La responsabilité de l'hyperHCY dans le phénotype clinique a pu être confirmée lors de certains évènements thrombotiques mais est plus difficile à établir pour les autres portes d'entrée. Cette étude souligne l'importance de renforcer le travail collaboratif entre les cliniciens de diverses spécialités et les praticiens biologistes ou cliniciens orientés vers la prise en charge des erreurs innées du métabolisme. Cibler les indications de dosage, structurer et optimiser la démarche diagnostique devraient permettre de limiter le nombre de situations avec une hyperHCY qualifiée d'indéterminée chez 18 % de nos patients. Soulignons enfin qu'en collaboration et sur l'initiative de nos collègues biologistes, un algorithme décisionnel concernant l'exploration à prévoir pour les hyperHCY  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  est désormais proposé en commentaire lors du rendu des résultats : cela facilite la démarche diagnostique et oriente dès que nécessaire vers une expertise métabolique spécialisée.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Selhub J, Wilson PWF, Rush D. Vitamin Status and Intake as Primary Determinants of Homocysteinemia in an Elderly Population. :6.
2. Morris AAM, Kožich V, Santra S, Andria G, Ben-Omran TIM, Chakrapani AB, et al. Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* janv 2017;40(1):49-74.
3. Yap S, Boers GHJ, Wilcken B, Wilcken DEL, Brenton DP, Lee PJ, et al. Vascular Outcome in Patients With Homocystinuria due to Cystathionine  $\beta$ -Synthase Deficiency Treated Chronically: A Multicenter Observational Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* déc 2001;21(12):2080-5.
4. Kluijtmans LAJ, Boers GHJ, Kraus JP. The Molecular Basis of Cystathionine b-Synthase Deficiency in Dutch Patients with Homocystinuria: Effect of CBS Genotype on Biochemical and Clinical Phenotype and on Response to Treatment. *Am J Hum Genet.* 1999;9.
5. Huemer M, Diodato D, Schwahn B, Schiff M, Bandeira A, Benoist J-F, et al. Guidelines for diagnosis and management of the cobalamin-related remethylation disorders cblC, cblD, cblE, cblF, cblG, cblJ and MTHFR deficiency. *J Inherit Metab Dis.* janv 2017;40(1):21-48.
6. McCully KS. Vascular Pathology of Homocysteinemia: Implications for the Pathogenesis of Arteriosclerosis. :18.
7. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest.* 1 sept 1976;58(3):731-41.
8. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest.* 1 avr 1986;77(4):1370-6.
9. Vanzin CS, Biancini GB, Sitta A, Wayhs CAY, Pereira IN, Rockenbach F, et al. Experimental evidence of oxidative stress in plasma of homocystinuric patients: A possible role for homocysteine. *Mol Genet Metab.* sept 2011;104(1-2):112-7.
10. Upchurch GR, Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, et al. Homocyst(e)ine Decreases Bioavailable Nitric Oxide by a Mechanism Involving Glutathione Peroxidase. *J Biol Chem.* 4 juill 1997;272(27):17012-7.
11. Nishio E, Watanabe Y. Homocysteine as a modulator of platelet-derived growth factor action in vascular smooth muscle cells: a possible role for hydrogen peroxide. *Br J Pharmacol.* sept 1997;122(2):269-74.

12. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, Robinson J, Thomas O, Leonard JV, et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol.* sept 1993;22(3):854-8.
13. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation.* 4 mars 1997;95(5):1119-21.
14. Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of Oxidant Stress in Endothelial Dysfunction Produced by Experimental Hyperhomocyst(e)inemia in Humans. *Circulation.* 14 sept 1999;100(11):1161-8.
15. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest.* 1 janv 1993;91(1):308-18.
16. Tofler G, D'Agostino R, Jacques P, Bostom A, Wilson P, Lipinska I, et al. Association Between Increased Homocysteine Levels and Impaired Fibrinolytic Potential: Potential Mechanism for Cardiovascular Risk. *Thromb Haemost.* 2002;88(11):799-804.
17. Lentz SR. Mechanisms of thrombosis in hyperhomocysteinemia. *Curr Opin Hematol.* sept 1998;5(5):343-9.
18. L'homocystéine plasmatique : quand et pourquoi la mesurer ? [Internet]. [cité 15 sept 2020]. Disponible sur: <https://www.edimark.fr/correspondances-mhdn/homocysteine-plasmatique-quand-pourquoi-mesurer>
19. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, et al. Facts and Recommendations about Total Homocysteine Determinations: An Expert Opinion. *Clin Chem.* 1 janv 2004;50(1):3-32.
20. Arnadóttir M, Hultberg B, Nilsson-Ehle P, Thysel H. The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentration. *Scand J Clin Lab Invest.* janv 1996;56(1):41-6.
21. Zoccolella S, Lamberti P, Armenise E, Mari M de, Lamberti SV, Mastronardi R, et al. Plasma homocysteine levels in Parkinson's disease: role of antiparkinsonian medications. *Parkinsonism Relat Disord.* mars 2005;11(2):131-3.
22. Guéant et al. - 2014 - La vitamine B12 et les maladies génétiques associé.pdf.
23. Zhao R, Aluri S, Goldman ID. The proton-coupled folate transporter (PCFT-SLC46A1) and the syndrome of systemic and cerebral folate deficiency of infancy: Hereditary folate malabsorption. *Mol Aspects Med.* févr 2017;53:57-72.

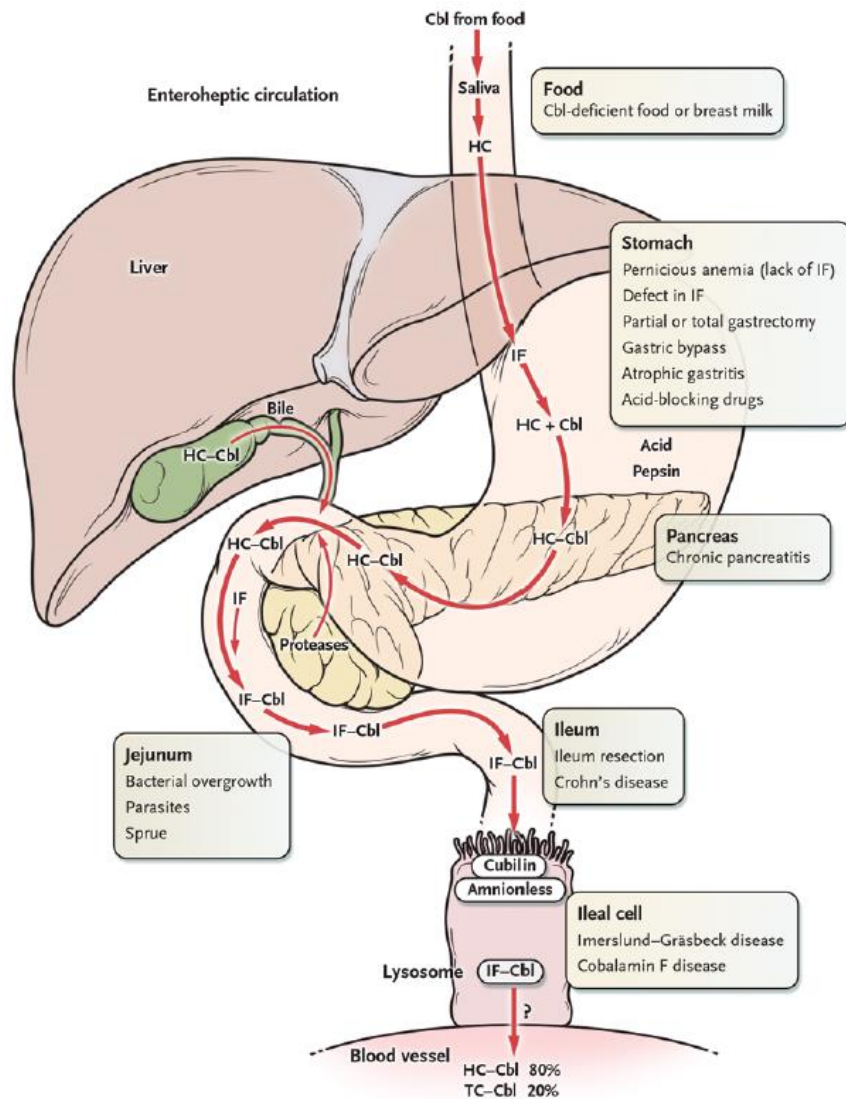
24. Saito M, Marumo K. The Effects of Homocysteine on the Skeleton. *Curr Osteoporos Rep.* oct 2018;16(5):554-60.
25. Rais L, Wafi M, Lahbil D, Iraki M, Fekkak J, Hamdani M, et al. Complications oculaires et systémiques de l'homocystinurie. *J Fr Ophtalmol.* 2020;26:6.
26. Huemer M, Scholl-Bürgi S, Hadaya K, Kern I, Beer R, Seppi K, et al. Three new cases of late-onset cbIC defect and review of the literature illustrating when to consider inborn errors of metabolism beyond infancy. *Orphanet J Rare Dis.* déc 2014;9(1):161.
27. Hickey SE, Curry CJ, Toriello HV. ACMG Practice Guideline: lack of evidence for MTHFR polymorphism testing. *Genet Med.* févr 2013;15(2):153-6.
28. Nefic et al. - 2018 - The Frequency of the 677CT and 1298AC Polymorphi.pdf.
29. Thrombophilie\_grossesse\_court.pdf.
30. Klee GG. Cobalamin and Folate Evaluation: Measurement of Methylmalonic Acid and Homocysteine vs Vitamin B12 and Folate. *Clin Chem.* 1 août 2000;46(8):1277-83.
31. Wilcken DEL, Wilcken B. [No title found]. *J Inherit Metab Dis.* 1997;20(2):295-300.
32. clarke 91 hcyst fdr cv NEJM.pdf.
33. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and Risk of Ischemic Heart Disease and Stroke: A Meta-analysis. *JAMA.* 23 oct 2002;288(16):2015.
34. Clarke R. Homocysteine, B Vitamins, and the Risk of Cardiovascular Disease. *Clin Chem.* 1 août 2011;57(8):1201-2.
35. Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, Dayer M. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Heart Group, éditeur. Cochrane Database Syst Rev [Internet].* 17 août 2017 [cité 31 août 2020]; Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD006612.pub5>
36. Évaluation a priori de l'extension du dépistage néonatal à une ou plusieurs erreurs innées du métabolisme par spectrométrie de masse en tandem. Volet 2 [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 15 sept 2020]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2866458/fr/evaluation-a-priori-de-l-extension-du-depistage-neonatal-a-une-ou-plusieurs-erreurs-innees-du-metabolisme-par-spectrometrie-de-masse-en-tandem-volet-2](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2866458/fr/evaluation-a-priori-de-l-extension-du-depistage-neonatal-a-une-ou-plusieurs-erreurs-innees-du-metabolisme-par-spectrometrie-de-masse-en-tandem-volet-2)
37. Huemer M, Diodato D, Martinelli D, Olivieri G, Blom H, Gleich F, et al. Phenotype, treatment practice and outcome in the cobalamin-dependent remethylation disorders and MTHFR deficiency: Data from the E-HOD registry. *J Inherit Metab Dis.* mars 2019;42(2):333-52.

38. Outteryck O, de Seze J, Stojkovic T, Cuisset J-M, Dobbelaere D, Delalande S, et al. Methionine synthase deficiency: A rare cause of adult-onset leukoencephalopathy. *Neurology*. 24 juill 2012;79(4):386-8.
39. Carmel R, Watkins D, Goodman SI, Rosenblatt DS. Hereditary defect of cobalamin metabolism (cblG mutation) presenting as a neurologic disorder in adulthood. *N Engl J Med*. 30 juin 1988;318(26):1738-41.
40. Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, Rogers G, Bowman BA, Gunter EW, et al. Serum Total Homocysteine Concentrations in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1991–1994): Population Reference Ranges and Contribution of Vitamin Status to High Serum Concentrations. *Ann Intern Med*. 7 sept 1999;131(5):331.
41. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring cohort. *Am J Clin Nutr*. 1 mars 2001;73(3):613-21.
42. Cohen E, Margalit I, Shochat T, Goldberg E, Krause I. Gender differences in homocysteine concentrations, a population-based cross-sectional study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. janv 2019;29(1):9-14.
43. Clark WF, Na Y, Rosansky SJ, Sontrop JM, Macnab JJ, Glasscock RJ, et al. Association between estimated glomerular filtration rate at initiation of dialysis and mortality. 2011;7.
44. Caslake R, Taylor K, Scott N, Gordon J, Harris C, Wilde K, et al. Age-, gender-, and socioeconomic status-specific incidence of Parkinson's disease and parkinsonism in North East Scotland: The PINE study. *Parkinsonism Relat Disord*. mai 2013;19(5):515-21.
45. Tao L-X, Yang K, Wu J, Mahara G, Zhang J, Zhang J-B, et al. Association between plasma homocysteine and hypertension: Results from a cross-sectional and longitudinal analysis in Beijing's adult population from 2012 to 2017. *J Clin Hypertens*. nov 2018;20(11):1624-32.
46. Rodrigo R, Passalacqua W, Araya J, Orellana M, Rivera G. Homocysteine and Essential Hypertension. *J Clin Pharmacol*. déc 2003;43(12):1299-306.
47. González J. Essential hypertension and oxidative stress: New insights. *World J Cardiol*. 2014;6(6):353.
48. guide\_parcours\_de\_soins\_mrc\_web.pdf [Internet]. [cité 17 sept 2020]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2012-04/guide\\_parcours\\_de\\_soins\\_mrc\\_web.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2012-04/guide_parcours_de_soins_mrc_web.pdf)
49. Nigwekar SU, Kang A, Zoungas S, Cass A, Gallagher MP, Kulshrestha S, et al. Interventions for lowering plasma homocysteine levels in dialysis patients. *Cochrane Kidney and Transplant Group*, éditeur. *Cochrane Database Syst Rev*

[Internet]. 31 mai 2016 [cité 31 août 2020]; Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD004683.pub4>

50. suivi\_du\_transplante\_renal\_-\_argumentaire.pdf.
51. Fonseca I, Martins L, Queirós J, Mendonça D, Dias L, Sarmento AM, et al. Impact of Homocysteinemia on Long-Term Renal Transplant Survival. *Transplant Proc.* juill 2005;37(6):2784-8.
52. ALFRED allele frequency in tabular format [Internet]. [cité 17 sept 2020]. Disponible sur: [https://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A\\_working.asp?siteuid=SI001032G](https://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A_working.asp?siteuid=SI001032G)
53. ALFRED allele frequency in tabular format [Internet]. [cité 17 sept 2020]. Disponible sur: [https://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A\\_working.asp?siteuid=SI003687Y](https://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A_working.asp?siteuid=SI003687Y)
54. Eldibany MM, Caprini JA. Hyperhomocysteinemia and thrombosis: an overview. *Arch Pathol Lab Med.* juin 2007;131(6):872-84.
55. Randhawa G, Bodenham A. The increasing recreational use of nitrous oxide: history revisited. *Br J Anaesth.* mars 2016;116(3):321-4.
56. Lan S-Y, Kuo C-Y, Chou C-C, Kong S-S, Hung P-C, Tsai H-Y, et al. Recreational nitrous oxide abuse related subacute combined degeneration of the spinal cord in adolescents – A case series and literature review. *Brain Dev.* mai 2019;41(5):428-35.
57. Garakani A, Jaffe RJ, Savla D, Welch AK, Protin CA, Bryson EO, et al. Neurologic, psychiatric, and other medical manifestations of nitrous oxide abuse: A systematic review of the case literature: Toxic Effects of Nitrous Oxide Abuse. *Am J Addict.* août 2016;25(5):358-69.
58. Smith AD, Refsum H, Bottiglieri T, Fenech M, Hooshmand B, McCaddon A, et al. Homocysteine and Dementia: An International Consensus Statement1. *J Alzheimers Dis.* 20 févr 2018;62(2):561-70.
59. Clarke R, Bennett D, Parish S, Lewington S, Skeaff M, Eussen SJPM, et al. Effects of homocysteine lowering with B vitamins on cognitive aging: meta-analysis of 11 trials with cognitive data on 22,000 individuals. *Am J Clin Nutr.* août 2014;100(2):657-66.
60. Ford AH, Almeida OP. Effect of homocysteine lowering treatment on cognitive function: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Alzheimers Dis JAD.* 2012;29(1):133-49.

## ANNEXE 1 : METABOLISME DE LA VITAMINE B12



### Mécanismes d'absorption normaux et ses défauts

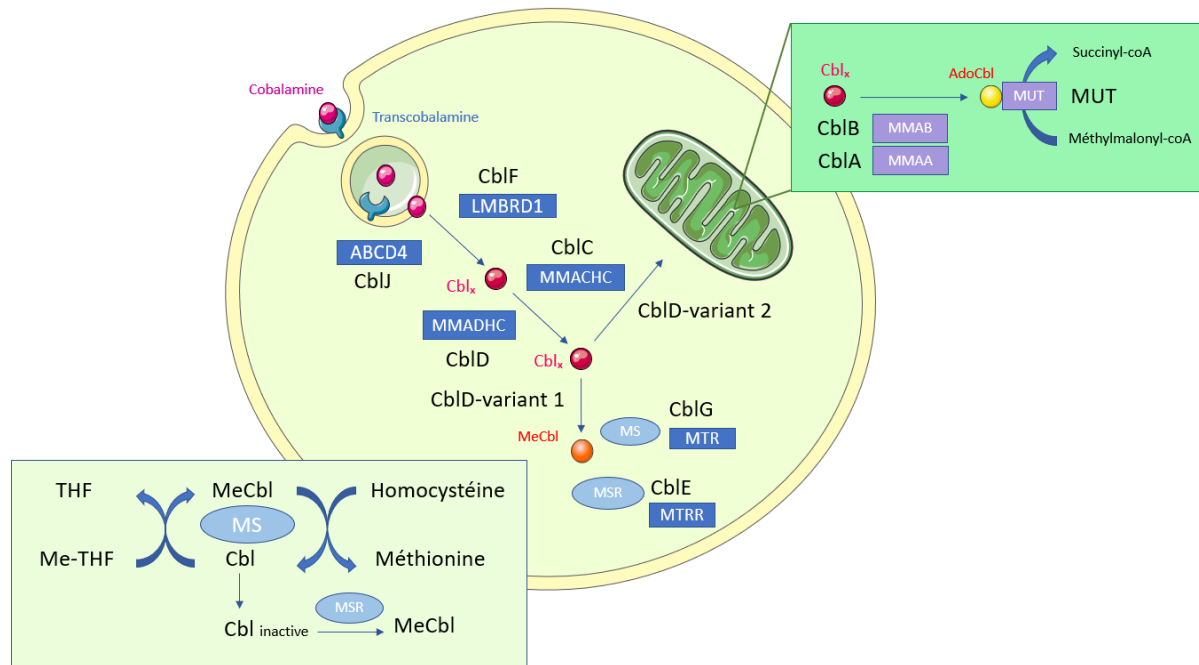
*D'après Stabler, 2013.*

Cbl : cobalamine ; HC : haptocorrine ; IF : facteur intrinsèque ; TC : transcobalamine.

Dans les pays occidentaux, un régime alimentaire normal procure de 5 à 10 µg de vitamine B12 par jour, quel que soit l'âge. Une fois ingérée, la vitamine B12 se libère des protéines animales au contact des sucs gastriques et se lie à un transporteur

endogène, l'haptocorrine (HC, gène *TNC1*). Au niveau duododéal, l'HC est dégradée par les protéases pancréatiques. La vitamine B12 est alors transférée au facteur intrinsèque (FI), sécrété par les cellules pariétales de l'estomac. Le complexe FI-vitamine B12 se fixe à un récepteur spécifique, appelé Cubam, composé de deux protéines, la cubiline et l'amnionless, situé au niveau de l'iléon distal, à la surface des entérocytes. Seule une faible fraction de la vitamine B12 est transportée dans le sang (environ 20%) par la transcobalamine (TC), sécrétée entre autre par les cellules endothéliales. Le complexe TC-vitamine B12 est reconnu par un récepteur spécifique, le TCbIR, codé par le gène *CD320*, appartenant à la famille des récepteurs-LDL. La majeure partie de la vitamine B12 est transportée dans le sang liée à l'HC. Ce complexe sera capté au niveau du foie et excrété dans la bile. Entre 60 à 80% de la vitamine B12 ingérée est éliminée dans les selles (Guéant et al., 2014).

## ANNEXE 2 : METABOLISME INTRA-CELLULAIRE DE LA VITAMINE B12



La cobalamine liée à la transcobalamine pénètre dans les cellules par endocytose. Au sein des lysosomes, la cobalamine est libérée de la transcobalamine par protéolyse. Les sujets atteints d'un déficit en CblF, ou en CblJ, présentent un défaut d'exportation de la cobalamine hors du lysosome. Les étapes cytoplasmiques suivant le relargage lysosomal ne sont pas encore clairement élucidées. Leur dysfonctionnement définit les groupes de complémentation CblC et CblD. Dans le cytoplasme, la cobalamine va être méthylée par la méthionine synthase réductase (MSR), formant alors la méthylcobalamine (MeCbl), cofacteur de la méthionine synthase (MS). Un défaut d'activité de la MSR se définit par un déficit en CblE, et celui de la MS, par un déficit en CblG. Les mutations bloquant la synthèse de la MeCbl entraînent une élévation isolée de l'homocystéine, sans acidurie



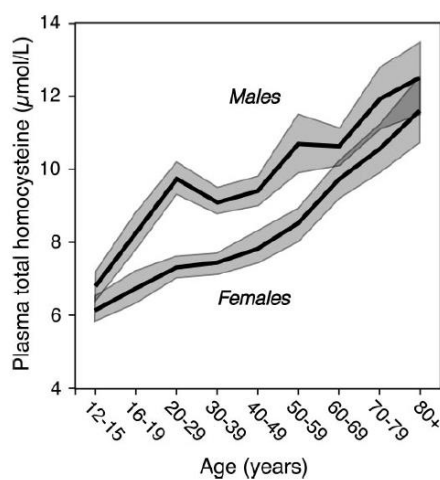
méthylmalonique. Au sein de la mitochondrie, la cobalamine est transformée en adénosylcobalamine (AdoCbl) par la cobalamine adénosyltransférase, déficiente dans les déficits en CblB. L'AdoCbl sert de cofacteur à la méthylmalonyl-coenzyme A (coA) mutase (MUT) synthétisant le succinyl-coA. Le rôle exact de la protéine associée au groupe de complémentation CblA n'est pas encore bien identifié. Les mutations touchant la voie de synthèse de l'AdoCbl (CblA, CblB, MUT) se traduisent biochimiquement par une élévation de l'AMM, sans élévation de l'homocystéine. Les mutations affectant le gène *MMADHC*, responsable du déficit en CblD, sont diverses et responsables de 3 tableaux distincts. Une atteinte du variant CblD-homocystinurie (CblD(HC ), variant 1) entraînant une hyperhomocystéinémie isolée; celle du variant CblD-méthylmalonic aciduria (CblD(MMA), variant 2) entraînant une acidurie méthylmalonique sans hyperhomocystéinémie (Coelho et al., 2008. Guéant et al., 2014) et enfin un déficit en CblD combinée entraînant à la fois une hyperhomocystéinémie et une élévation de l'acide méthylmalonique (CblD(MMA/HC)).

## ANNEXE 3 : PRINCIPAUX MECANISMES DES DEFICITS EN COBALAMINES IMPLIQUES DANS L'HYPERHOMOCYSTEINEMIE ET LEURS GENES.

Hyperhomocystéinémie et élévation de l'AMM (déficit combinée Me-B12 et Ado-B12)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Relargage lysosomal</li> </ul>	
<p>Déficit en cobalamine F (AR)</p> <p>Gène LMBRD1</p>	Protéine LMBD1 intervenant dans le blocage du relargage lysosomal de la cobalamine vers le cytoplasme.
<p>Déficit en cobalamine J (AR)</p> <p>Gène ABCD4</p>	Protéine ABCD4 intervenant dans le relargage lysosomal de la cobalamine.
<ul style="list-style-type: none"> <li>Etapes cytoplasmiques communes à la synthèse des cofacteurs AdoCbl et MeCbl</li> </ul>	
<p>Déficit en cobalamine C (AR)</p> <p>Gène MMACHC</p> <p>(methylmalonic aciduria and homocystinuria type C)</p>	Protéine MMACHC prenant en charge la cobalamine libéré dans le cytoplasme.
<p>Déficit en cobalamine D (AR)</p> <p>(CbID-MMA/HC = forme combinée)</p> <p>Gène MMADHC</p> <p>(methylmalonic aciduria and homocystinurie type D)</p>	Protéine MMADHC, protéine de transport intra-cytoplasmique de la cobalamine.
Hyperhomocystéinémie isolée (dernières étapes de la synthèse de la Me-B12)	
<p>Déficit en cobalamine G (AR)</p> <p>Gène MTR</p>	Défaut d'activité de la méthionine synthase (MS)
<p>Déficit en cobalamine E (AR)</p> <p>Gène MTRR</p>	Défaut d'activité de la méthionine synthase réductase (MSR)
<p>Déficit en cobalamine D (AR)</p> <p>(CbID-HC)</p> <p>Gène MMADHC</p>	Mutations faux sens au sein des exons 6 et 8 du gène <i>MMADHC</i>

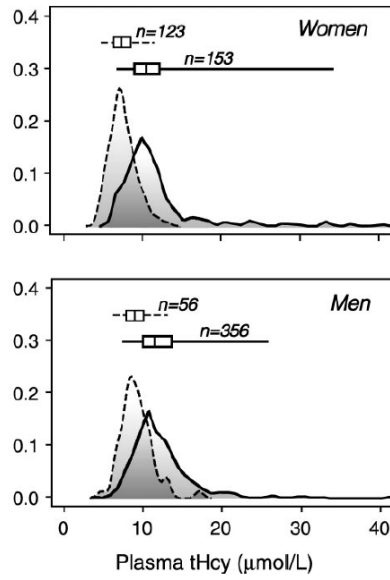
AR : Autosomique récessif

## ANNEXE 4 : FACTEURS PHYSIOLOGIQUES ET ENVIRONNEMENTAUX IMPLIQUES DANS UNE ELEVATION MODESTE DE L'HOMOCYSTEINE (ENTRE 14 ET 50 $\mu\text{MOL/L}$ ) : AGE, SEXE, MODE DE VIE (CAFE, TABAC)



*Figure 1 : Effet de l'âge et du sexe sur les concentrations d'homocystéine. La différence moyenne entre les deux sexes est d'environ 2  $\mu\text{mol/L}$  et tend à diminuer avec l'âge.*

Issue de Refsum et al., 2004, d'après les données de l'étude de Jacques et al., 1999.



**Figure 2 :** Effet du mode de vie sur la distribution des concentrations d'homocystéine chez les hommes et les femmes.

La ligne en pointillée représente les individus ayant un mode de vie sain (non-fumeurs, consommation faible de café, apports vitaminiques corrects). En continue sont représentés les individus fumeurs, buvant au moins 5 tasses de café par jour et avec des apports en folates faibles.

Issue de Refsum et al., 2004, d'après Nygard et al., 1998.

## **ANNEXE 5 : EVALUATION DE LA SENSIBILITE A LA VITAMINE B6 DE L'ENZYME CBS MUTEE**

Afin de tester la sensibilité à la vitamine B6, un traitement d'épreuve est réalisé dès le début de la prise en charge. Une dose de charge de pyridoxine est donnée pendant plusieurs semaines (10 mg/kg/j chez l'adulte, sans dépasser 500 mg/j, sur une période d'environ 6 semaines; 100 mg/j sur 2 semaines chez les nourrissons).

- **Si l'homocystéinémie s'abaisse en-deçà de 50  $\mu\text{mol/L}$ , le diagnostic de forme B6-sensible est retenu.** Le traitement par pyridoxine sera poursuivi à la dose minimale permettant le bon contrôle métabolique.
- **Si l'homocystéinémie baisse de plus de 20 % tout en restant supérieure à 50  $\mu\text{mol/L}$ , le sujet est partiellement répondeur à la vitamine B6** et un traitement complémentaire devra être instauré.
- **Si l'homocystéinémie ne baisse pas ou baisse de moins de 20%, le diagnostic d'une forme B6-non-sensible est retenu.**

# ANNEXE 6 : ATTESTATION DE DECLARATION D'UN TRAITEMENT INFORMATIQUE



DIRECTION GENERALE

DEPARTEMENT DES RESSOURCES NUMERIQUES

N/Réf : DEC19-470

## Attestation de déclaration d'un traitement informatique

*Philippe LECA*  
Directeur  
Délégation du Système  
d'Information

*Guillaume DERAEDT*  
Data Protection Officer

Secrétariat  
Tél. 03.20.44.44.26  
Fax : 03.20.44.58.59

Je soussigné, Monsieur Guillaume DERAEDT, en qualité de Data Protection Officer (Délégué à la Protection des Données) du GHT Lille métropole Flandre intérieure atteste que le fichier de traitement ayant pour finalité : **Thèse de Melle Lucile Vaneste, "Hyperhomocystéinémies à risque intermédiaire et élevé : étude épidémiologique au CHU de LILLE"** mis en œuvre en 2019, a bien été déclaré par CLAIRE DOUILLARD.

La déclaration est intégrée dans le registre de déclaration normale du Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille.

Attestation réalisée pour valoir ce que de droit.

Fait à LILLE, le 11/09/2020



**AUTEUR : Nom : VANNESTE**

**Prénom : Lucile**

**Date de soutenance : 28 Septembre 2020**

**Titre de la thèse : Hyperhomocystéinémies égales ou supérieures à 50  $\mu\text{mol/L}$  : analyse descriptive et rétrospective d'une cohorte de 286 patients au CHU de Lille.**

**Thèse - Médecine - Lille « 2020 »**

**Cadre de classement : METABOLISME**

**DES + spécialité : ENDOCRINOLOGIE-DIABETOLOGIE-METABOLISME**

**Mots-clés : hyperhomocystéinémie, CBS, MTHFR, troubles des cobalamines, folates et vitamine B12, évènements thrombotiques.**

**Résumé :**

**Contexte :** Les hyperhomocystéinémies sont d'origine acquise ou génétique. Notre objectif primaire est d'identifier les étiologies des hyperhomocystéinémies  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ . Nos objectifs secondaires seront de décrire les phénotypes des patients présentant une hyperhomocystéinémie génétique, d'identifier le contexte clinique ayant conduit au dosage et de comparer chez l'adulte le niveau d'hyperhomocystéinémie chez ceux ayant présenté un évènement thrombotique par rapport à ceux n'en ayant pas présenté.

**Méthode :** Il s'agit d'une étude descriptive et rétrospective. Une extraction nominative des taux d'homocystéine totale plasmatique  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  a été réalisée du 1<sup>er</sup> janvier 2014 au 31 mars 2020 au sein du CHU de Lille.

**Résultats :** 286 sujets présentent une homocystéine totale plasmatique  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$ , dont 23 enfants et 263 adultes. Chez l'enfant, elles sont d'origine génétique dans la moitié des cas et carencielles dans 23% des cas (vitamine B12 et/ou folates). Chez l'adulte, l'étiologie principalement identifiée est carencielle (45 %). Les autres étiologies identifiées sont : génétiques (3,4 %), secondaire à une insuffisance rénale chronique (25,9 %), d'origine médicamenteuse / toxique (7,6 %). Une étiologie n'a pu être identifiée chez 18 % des patients. Les indications principales de dosage étaient la survenue d'un évènement thrombotique chez 37,7 % des patients, l'exploration de troubles cognitifs ou d'autres troubles neurologiques respectivement chez 15.2 % et 9.2 %. Les hyperhomocystéinémies génétiques diagnostiquées à l'âge adulte sont majoritairement révélées par un évènement thrombotique. Le niveau d'homocystéinémie est plus élevé chez les patients présentant un accident thrombotique (artériel et/ou veineux) par rapport au reste des patients.

**Conclusion :** Quatre grandes étiologies d'hyperhomocystéinémie  $\geq 50 \mu\text{mol/L}$  ont pu être identifiées, majoritairement d'origine génétique chez l'enfant et carencielle chez l'adulte. Elle reste inexplicquée pour 18% des patients adultes : une collaboration plus étroite entre les équipes médicales, biologiques et spécialisées dans les erreurs innées du métabolisme permettra d'optimiser la démarche diagnostique.

**Composition du Jury :**

**Président : Pr Marie-Christine VANTYGHM**

**Assesseurs : Pr Jean-François BENOIST, Dr Cécile YELNIK,**

**Dr Karine MENTION ; Dr Marie JONCQUEL**

**Directeur de thèse : Dr Claire DOUILLARD**