

Le carbohydrate-déficient glycoprotéin syndrome de type I : un nouvel éclairage sur le métabolisme du mannose

Nathalie Seta
Thierry Dupré
Valérie Cormier-Daire
Pascale de Lonlay
Stuart Moore
Geneviève Durand
Patrice Codogno

ADRESSES

N. Seta : Biochimie A, Hôpital Bichat, 46, rue Henri-Huchard, 75877 Paris Cedex 18, France et Faculté de pharmacie, Université Paris V, 75270 Paris Cedex 06, France. T. Dupré : Biochimie A, Hôpital Bichat, 46, rue Henri-Huchard, 75877 Paris Cedex 18, France. V. Cormier-Daire : Service de génétique médicale-Inserm U. 393, Hôpital Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France. P. de Lonlay : Service de pédiatrie et maladies métaboliques, Hôpital Necker, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15, France. S. Moore : Inserm U. 504, Bâtiment Inserm « 15-16 », 16, avenue Paul-Vaillant-Couturier, 94807 Villejuif Cedex, France. G. Durand : Biochimie A, Hôpital Bichat, 46, rue Henri-Huchard, 75877 Paris Cedex 18, France et Faculté de pharmacie. P. Codogno : Inserm U. 504, Bâtiment Inserm « 15-16 », 16, avenue Paul-Vaillant-Couturier, 94807 Villejuif Cedex, France.

Le *carbohydrate-déficient glycoprotéin syndrome* (CDGS) représente une nouvelle classe d'erreurs innées du métabolisme de la partie glycanique des N-glycosylprotéines. Le CDGS est constitué de plusieurs types dont le plus courant est le type I. Le CDGS de type Ia, le plus fréquemment diagnostiqué, est dû à des mutations dans un des gènes codant pour la phosphomannomutase (PMM2), le CDGS de type Ib à des mutations dans le gène codant pour la phosphomannose isomérase (PMI). Ces mutations qui inactivent des enzymes du métabolisme du mannose, monosaccharide essentiel des glycanes des N-glycosylprotéines, ont permis de révéler la spécificité de ce métabolisme par rapport à celui des autres hexoses dont le glucose. La cellule met en place des voies sophistiquées de transport et de catabolisme intracellulaires pour recycler et ainsi réutiliser le mannose pour la biosynthèse des N-glycosylprotéines. La présence de transporteurs membranaires spécifiques du mannose permet, par complément nutritionnel, d'utiliser ce monosaccharide comme agent thérapeutique dans certains CDGS de type I.

Le mannose et le glucose sont, avec le fructose dont ils dériveraient, les monosaccharides les plus primitifs. Ils sont probablement le fruit de la chimie prébiotique. Tous les autres monosaccharides naturels peuvent être synthétisés directement ou indirectement par voie enzymatique à partir de ces trois sucres ancestraux [1]. Il est remarquable que la fonction principale du glucose et du fructose est de servir de métabolites nutritifs pour la cellule alors que le

mannose joue de façon privilégiée un rôle de composant structural.

Le mannose est un aldohexose neutre, le 2-épimère du glucose (figure 1). Cet ose est impliqué dans le *carbohydrate-déficient glycoprotéin syndrome* de type I, appartenant à un nouveau groupe de maladies appelées syndrome d'hypoglycosylation des protéines, décrits au début des années 1980 par Jaeken et ses collaborateurs [2]. L'étude de cette maladie et des recherches récentes sur le métabolisme s'y rapportant permettent main-

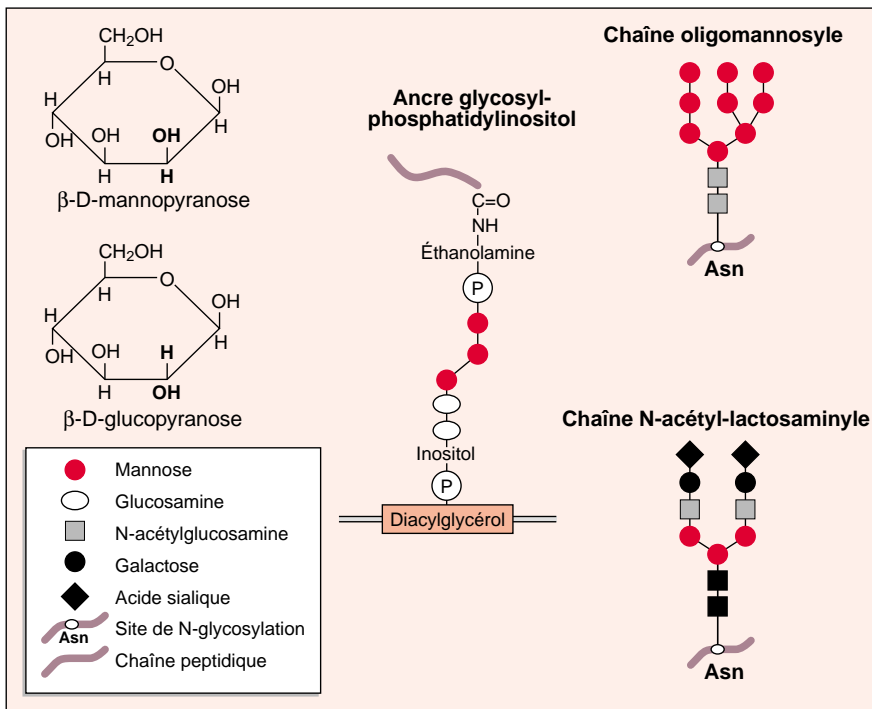


Figure 1. **Structure des oligosaccharides contenant du mannose.** Le D-mannose est l'épimère en C2 du D-glucose. Chez les mammifères, le mannose entre dans la constitution des oligosaccharides des N-glycosylprotéines et de l'ancre glycosyl-phosphatidylinositol des glycosylprotéines membranaires.

tenant de mieux comprendre l'origine cellulaire du mannose.

Synthèse des macromolécules

Chez les mammifères, le mannose entre principalement dans la composition de deux types de polysaccharides complexes (figure 1): les chaînes oligosaccharidiques des N-glycosylprotéines et l'ancre glycosyl-phosphatidylinositol (GPI) qui assure l'insertion dans la double couche lipidique de différentes glycosylprotéines membranaires (5'-nucléotidase, phosphatase alcaline, *decay-accelerating factor*, etc.). La synthèse de ces glycosylprotéines débute dans le réticulum endoplasmique et leur maturation s'effectue essentiellement dans l'appareil de Golgi.

Un trait commun des oligosaccharides des N-glycosylprotéines et de l'ancre GPI est que leur synthèse se déroule dans la membrane du réticulum endoplasmique (figure 2). Le mannose est activé dans le cytosol sous forme de GDP-mannose.

Le GDP-mannose peut intervenir de trois façons dans la synthèse des macromolécules mannosylées :

- Directement dans la synthèse du dolichyl-pyrophospho-oligosaccharide sur la face cytosolique du réticulum endoplasmique pour former une structure contenant 2 résidus N-acétylglucosaminyles et 5 résidus mannosyles (figure 2A).

- Indirectement en permettant la synthèse du dolichyl-phosphomannose sur la face cytosolique du réticulum endoplasmique (figure 2B). Après translocation vers la lumière du réticulum endoplasmique, le dolichyl-phosphomannose permet la synthèse du dolichyl-pyrophospho-oligosaccharide contenant 2 résidus N-acétylglucosaminyles et 9 résidus mannosyles. Après addition de trois résidus glucosyles, le tétradecasaccharide est transféré sur un site consensus de N-glycosylation des chaînes polypeptidiques. Après élimination des 3 résidus glucosyles et de 6 résidus mannosyles par l'action de glycosidases golgiennes et du réticulum endoplasmique, les chaînes glycanes des N-glycosylpro-

téines sont complétées par l'incorporation de sucres périphériques (fucose, galactose, N-acétylglucosamine, acide sialique), grâce à l'action de glycosyltransférases golgiennes. Les N-glycosylprotéines sont ensuite transportées vers leur destination finale (membrane plasmique, endomembranes, milieu extracellulaire).

Le dolichyl-phosphomannose est aussi un intermédiaire dans la synthèse de l'ancre GPI qui, dans le réticulum endoplasmique, substitue la partie carboxy-terminale de certaines protéines destinées à être transportées vers la membrane plasmique.

- Enfin, chez l'homme, c'est à partir du GDP-mannose qu'est formé le GDP-fucose (figure 2C). Le branchement des résidus fucosyles sur les chaînes oligosaccharides membranaires est un élément essentiel des groupes sanguins (A, B, O, Lewis).

Origines du mannose

Le mannose se retrouve dans les règnes végétal et animal, sous formes libre et complexée [3]. Peu d'informations sont disponibles sur le mannose libre alimentaire. Il existe sous forme de monosaccharide dans les fruits, dont les pêches, les oranges et les pommes. Sous forme complexe, on le trouve dans une grande variété de N-glycosylprotéines alimentaires, potentiellement libérable par de nombreuses mannosidases, glycosidases coupant les liaisons ose-mannose. Le mannose est aussi le composant unique d'un polysaccharide de levure, le mannane, les liaisons entre les unités mannosyles pouvant varier selon les espèces de levure. On ne connaît pas encore la contribution exacte du mannose alimentaire comme source de mannose pour l'organisme.

Le mannose intracellulaire qui entre dans la composition des chaînes oligosaccharidiques des glycoconjugués provient à la fois du milieu extracellulaire *via* des transporteurs membranaires spécifiques et du métabolisme intracellulaire (catabolisme, remodelage des chaînes oligosaccharidiques des N-glycosylprotéines).

Origine extracellulaire

Dans l'épithélium intestinal de rat et dans des cellules intestinales humaines en culture, nous avons montré qu'il

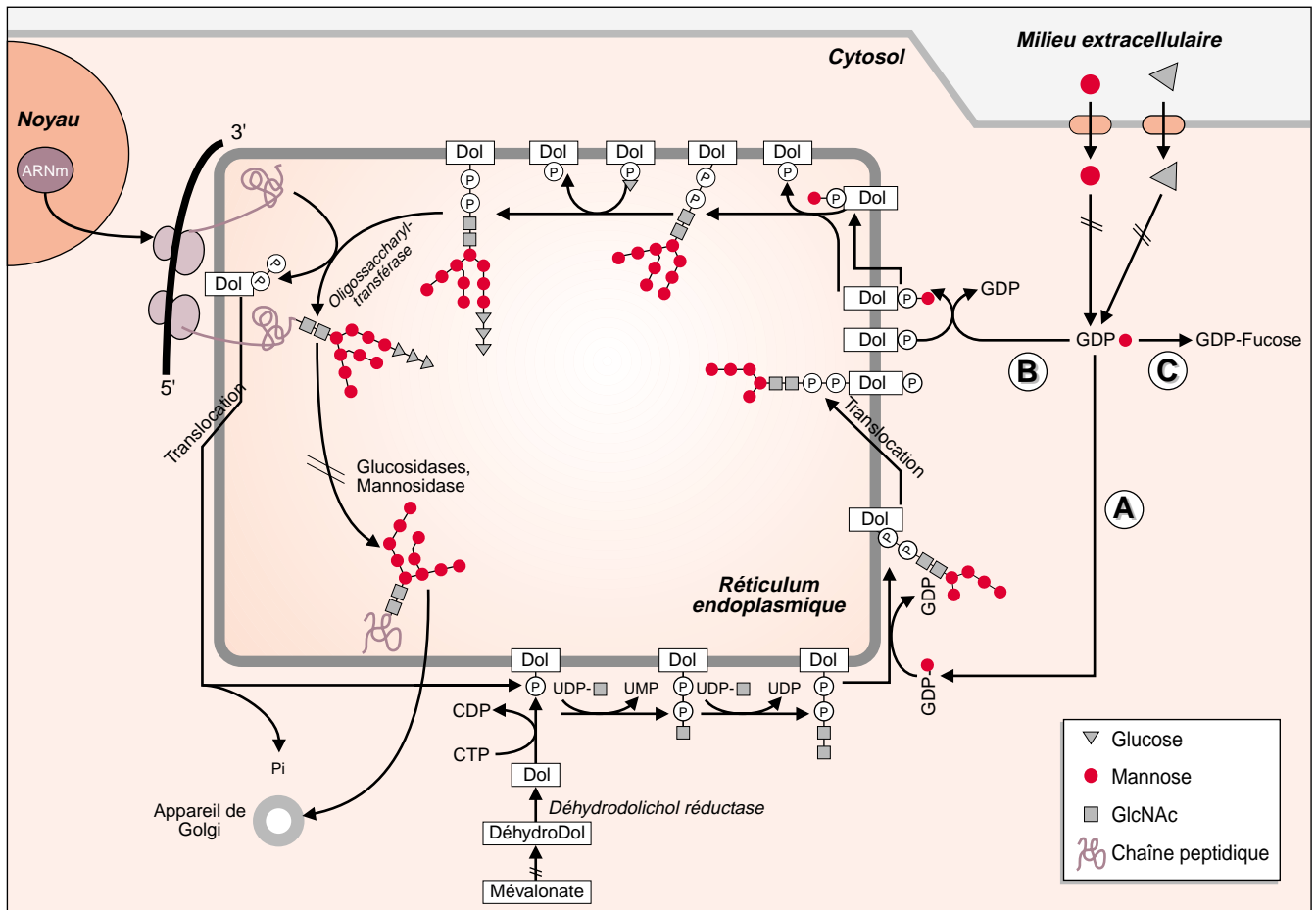


Figure 2. **Devenir du GDP-mannose et synthèse du précurseur oligosaccharidique des N-glycosylprotéines.** A. Le GDP-mannose peut servir de donneur de mannose pour le transfert de 5 résidus mannosyles sur le dolichyl(Dol)-pyrophosphate oligosaccharide en cours de synthèse sur la surface externe du réticulum endoplasmique. B. Le mannose est transféré du GDP au dolichyl-phosphate inclus dans la membrane du réticulum endoplasmique. Le dolichyl-phosphomannose après translocation permet le transfert de 4 résidus mannosyles sur le dolichyl-pyrophosphate oligosaccharide, synthétisé dans la lumière du réticulum endoplasmique. Le dolichyl-phosphomannose est aussi donneur de mannose dans la synthèse de l'ancre glycosyl-phosphatidylinositol. C. Le GDP-mannose est le précurseur du GDP-fucose.

existait un système de transport spécifique du mannose à l'instar de celui du glucose, c'est-à-dire un transport dépendant du sodium dans la membrane apicale des entérocytes et un transport de type facilité dans la membrane basolatérale [4]. Depuis ces travaux, des systèmes de transport de type facilité du mannose ont été décrits dans différents types cellulaires tels que les cellules hépatiques, les fibroblastes, les macrophages et les cellules gliales [5]. L'importance physiologique du transport membranaire du mannose est soulignée par le fait que la constante d'affinité du transport du mannose (30 et 120 μM) est du même ordre de grandeur que la mannosémie chez les mammifères [6]. Après

son transport dans la cellule, le mannose est rapidement transformé en mannose 6-phosphate par l'action de l'hexokinase, puis en mannose 1-phosphate par l'action de la phosphomannomutase, enfin en GDP-mannose par la mannose 1-phosphate guanidyl transférase (figure 3).

Origine intracellulaire

Le mannose provient également du métabolisme des N-glycosylprotéines à différents stades de leur synthèse et de leur catabolisme. Le mannose 6-phosphate provient aussi du métabolisme du glucose 6-phosphate par interconversion de leur forme phosphorylée : le mannose 6-phosphate

peut être formé à partir du fructose 6-phosphate, un intermédiaire du métabolisme du glucose, sous l'action de la phosphomannose isomérase (PMI) (figure 3). Des études récentes [6, 7] semblent indiquer que cette voie contribue faiblement (25 %) à la production de mannose incorporé dans les chaînes oligosaccharidiques des N-glycosylprotéines : dans des fibroblastes ou des cellules d'origine hépatique (HepG2) en culture, 75 % du mannose tritié retrouvé dans les chaînes oligosaccharidiques des N-glycosylprotéines proviendrait du mannose tritié ajouté dans le milieu de culture en présence d'un grand excès (100 fois) de glucose. Si la concentration de mannose tritié

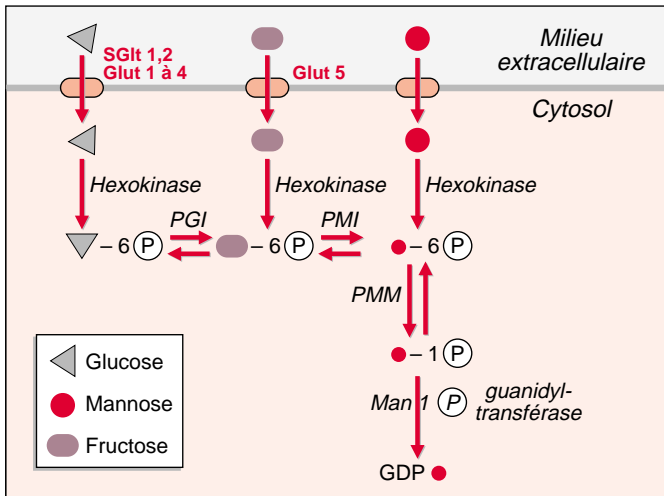


Figure 3. **Synthèse du GDP-mannose.** Le mannose 6-phosphate peut provenir du métabolisme du glucose, du fructose et du mannose, entrés dans la cellule par des transporteurs membranaires spécifiques. PGI : phosphoglucose isomérase. PMI : phosphomannose isomérase. PMM : phosphomannomutase.

où une mannosidase cytosolique débute sa dégradation en produisant un oligosaccharide avec 5 résidus de mannose et 1 résidu de N-acétylglucosamine [18]. Cet oligosaccharide est ensuite transporté vers la lumière lysosomiale pour y être dégradé [19]. Le mannose et la N-acétylglucosamine libérés lors du catabolisme des oligosaccharides libres ou liés aux N-glycosylprotéines, sont recyclés vers le cytosol grâce à la présence dans la membrane du lysosome de transporteurs d'hexoses [20] et d'hexosamines [21].

Mannose en physiopathologie

Le mannose est un composant habituel du sang des mammifères [6]. Sa concentration sérique varie selon les espèces de 30 à 160 $\mu\text{mol/l}$. Elle est 50 à 150 fois inférieure à celle du glucose sanguin.

Chez l'homme, la mannosémie à jeun est comprise entre 35 et 75 $\mu\text{mol/l}$. Elle augmenterait après le repas. Le mannose alimentaire est absorbé par l'entérocyte, par un transport actif facilité (voir plus haut). Par ailleurs, les travaux originaux de Silverman *et al.* ont permis de montrer qu'il existait, dans des préparations de bordures en brosse obtenues à partir de cortex rénal de chien, un système de transport de mannose dépendant du sodium, distinct de celui du glucose [22]. Le mannose sanguin est filtré par le glomérule, puis réabsorbé par le tubule par ce transporteur.

Le mannose en excès est à l'origine du *honeybee syndrome* [23] : l'alimentation des abeilles par du mannose sans apport de glucose provoque la mort des abeilles à courte échéance. La forte activité hexokinase associée à une activité PMI faible entraîne une accumulation intracellulaire de mannose 6-phosphate et une déplétion en ATP fatale à cette espèce. Le remplacement du glucose par du mannose dans les milieux de culture d'embryons de rat provoque un retard de croissance et un défaut de fermeture du tube neuronal, en relation avec l'inhibition de la glycolyse [23]. Un effet semblable sur les cultures de rein de souris est observé et est réversible lors de l'ajout d'ATP au milieu de culture [24].

dans le milieu de culture est augmentée, on observe alors une augmentation de la production de $^3\text{H}_2\text{O}$, le mannose 6-phosphate formé s'engageant dans la voie de la glycolyse par l'action de la PMI (figure 3). Les auteurs de cette étude concluent que, dans des conditions physiologiques, l'activité principale de la PMI serait de convertir le mannose 6-phosphate en fructose 6-phosphate, et non l'inverse.

L'autre origine intracellulaire du mannose est le recyclage de ce monosaccharide à partir de l'oligosaccharide encore lié au dolichyl-pyrophosphate ou déjà partie intégrante des N-glycosylprotéines (figure 4). Les sites intracellulaires à l'origine de ce recyclage sont multiples : réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, lysosomes et cytosol.

Lors de la biosynthèse des N-glycosylprotéines, le mannose est libéré des chaînes oligosaccharidiques oligomannosylées liées aux N-glycosylprotéines, par l'action des mannosidases golgiennes et réticulaires présentes dans la lumière de ces organites [8] (figure 4A). Ce mannose libre peut avoir accès au cytosol par libre diffusion ou diffusion facilitée. En effet, les membranes du réticulum endoplasmique [9, 10] et de l'appareil de Golgi [11] semblent plus perméables aux monosaccharides que les membranes plasmique et lysosomiale; le mannose pourrait aussi utiliser le

transporteur du glucose GLUT 7 du réticulum endoplasmique [12] dans les cellules qui expriment ce transporteur. On ne peut pas toutefois exclure qu'une fraction du mannose libéré reste dans les compartiments de la voie d'exocytose, et donc soit transporté vers la surface cellulaire et sécrété dans le milieu extérieur, contribuant ainsi à la mannosémie.

Le catabolisme lysosomal des N-glycosylprotéines, qui peuvent provenir soit de la surface cellulaire et du milieu extracellulaire le long de la voie d'endocytose (figure 4B), soit des compartiments intracellulaires, notamment du réticulum endoplasmique par la voie macro-autophagique [13], est une source intracellulaire de mannose. La contribution de ces deux voies dans la production de mannose libre est variable suivant le type cellulaire considéré et l'état nutritionnel de la cellule.

Une autre origine certainement quantitativement importante de mannose provient : (1) des oligosaccharides riches en mannose et libres, formés lors de la dégradation des N-glycosylprotéines dans le réticulum endoplasmique et/ou le cytosol [14, 15]; (2) de l'hydrolyse du dolichyl-pyrophospho-oligosaccharide sur la face cytosolique [16] ou luminale [17] du réticulum endoplasmique (figure 4C).

Quelle que soit l'origine de l'oligosaccharide, il séjourne dans le cytosol

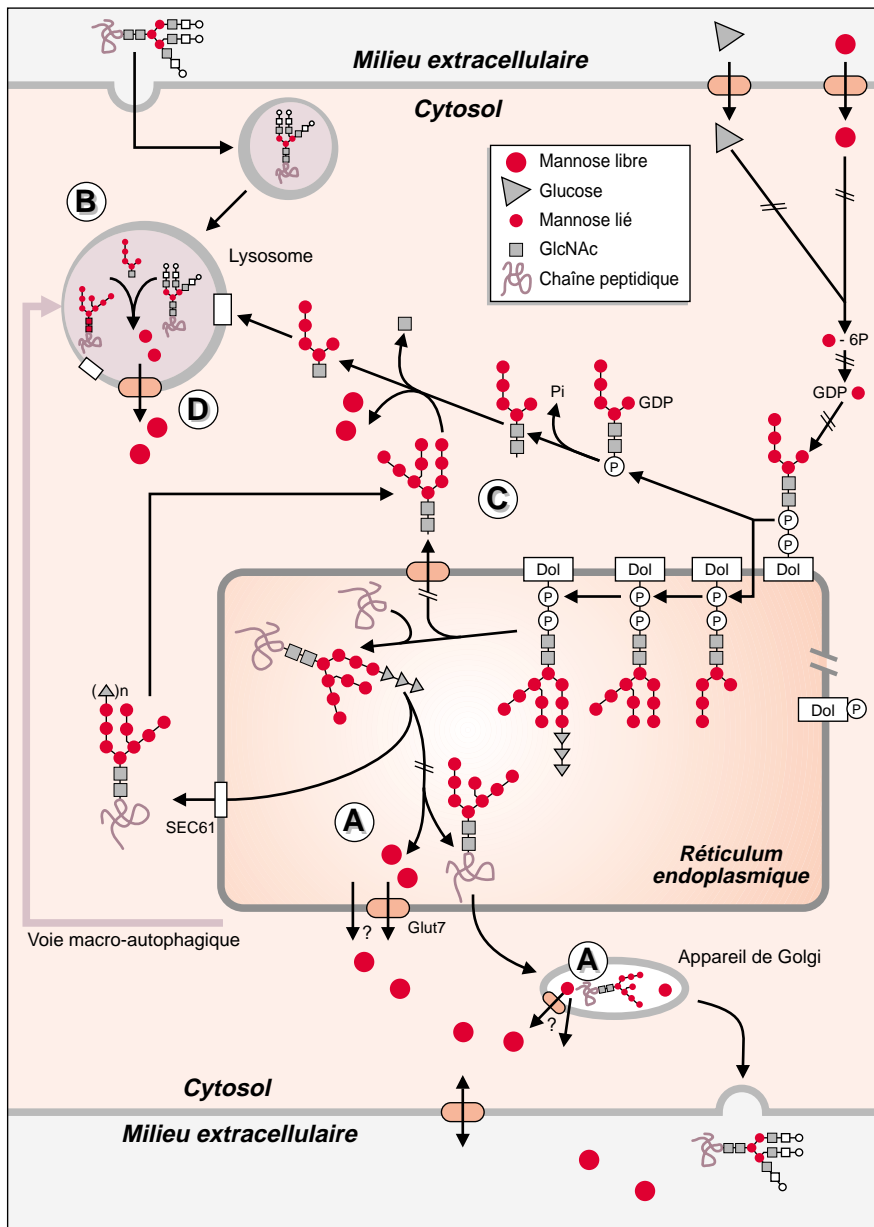


Figure 4. **Sources et métabolisme intracellulaire du mannose.** A. La biosynthèse des N-glycosylprotéines entraîne la libération de mannose par l'action des mannosidases golgiennes et du réticulum endoplasmique; ce mannose a accès au cytosol. B. L'endocytose à partir de la surface cellulaire et la dégradation macro-autophagique des N-glycosylprotéines permettent la libération de mannose dans le lysosome sous l'action de mannosidases acides. C. Le catabolisme cytosolique, puis lysosomal, des oligosaccharides libres (provenant de la dégradation des N-glycosylprotéines et des dolichyl-pyrophosphates oligosaccharides du réticulum endoplasmique) permet la libération de mannose dans le lysosome. D. Le mannose libéré dans le lysosome via les voies B et C, est transporté vers le cytosol par un transporteur d'hexose présent dans la membrane lysosomiale. Le mannose libéré dans le cytosol par les voies A, B, C et D est ensuite sécrété et/ou transporté dans le milieu extracellulaire ou encore rephosphorylé par l'hexokinase. GlcNAc: N-acétylglucosamine.

Chez l'homme, peu de perturbations du métabolisme du mannose ont été décrites car elles ont été peu recherchées. L'implication du mannose

dans le *carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome* de type I attire l'attention sur ce monosaccharide et va permettre son étude en physiopathologie.

Les quelques études portant sur les variations de la mannosémie ont mis en évidence une corrélation positive entre la glycémie et la mannosémie [25], avec une élévation de la mannosémie au cours du diabète insulino-dépendant. On observe aussi une augmentation de la mannosémie au cours des candidoses, par le biais d'une production par la levure, et au cours d'atteintes rénales (glomérulonéphrite, néphrose lipoïdique), du fait d'une diminution de l'élimination rénale.

En revanche, une diminution de la mannosémie n'a été rapportée à ce jour qu'au cours du *carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome* (CDGS) de type I [26].

Le CDGS de type I

Le CDGS représente une nouvelle classe d'erreurs innées du métabolisme touchant la synthèse de la partie glycanique des N-glycosylprotéines [2]. Ce syndrome associe des atteintes plus ou moins sévères du système nerveux central et périphérique et des atteintes multisystémiques majeures, à des anomalies de glycosylation des N-glycosylprotéines sériques. Le diagnostic est évoqué par la clinique et confirmé par la mise en évidence biochimique de ces anomalies de glycosylation.

Le CDGS est constitué de plusieurs types dont le plus courant est le type I, au cours duquel on observe une occupation variable des sites de N-glycosylation d'un grand nombre de N-glycosylprotéines sériques. Le CDGS type I [27] est une maladie autosomique récessive de répartition géographique large (Europe du Nord et du Sud, Japon, États-Unis d'Amérique, Moyen-Orient, Pérou, etc.); il a une prévalence provisoire de 1/50 000 à 1/100 000. On différencie les patients ayant un déficit associé d'activité phosphomannomutase (PMM) (type Ia, le plus fréquemment diagnostiqué), ceux ayant un déficit associé d'activité PMI (type Ib) et ceux dont le défaut primaire n'est pas encore connu (type Ix). Plus de cent cinquante cas de patients atteints de CDGS de type I sont déjà répertoriés dans le monde. Les autres types de CDGS (II, III, IV) comportent au maximum trois patients chacun.

Le syndrome clinique du CDGS de type I est variable selon l'âge [27] et diffère selon le sous-type; pour les sous-types Ia et Ib, les symptômes majeurs sont neurologiques [27]: retard psychomoteur modéré à sévère, dysfonctionnement cérébelleux, strabisme, neuropathies périphériques, hypotonie axiale, ataxie, convulsions et pertes de connaissance. Une rétinite pigmentaire est associée. Une dysmorphie faciale (front bombé, grandes oreilles molles), des mamelons ombiliqués, et une répartition anormale des graisses avec un aspect en «peau d'orange», ou une lipodystrophie, sont évocateurs du diagnostic mais la lipodystrophie peut avoir un caractère transitoire. Des atteintes cardiaques (péricardite, cardiomyopathie), digestives (hépatomégalie, diarrhées, vomissements, stéatorrhée, difficulté d'alimentation) et rénales (tubulopathie, kystes rénaux), des infections sévères, des thromboses et saignements, une ostéopénie et des déformations du squelette (cyphose, limitation articulaire) et des troubles hormonaux dont un hypogonadisme féminin peuvent également être présents. Le diagnostic est fait à un âge variable en fonction de la gravité du tableau clinique. Lorsque le décès survient en bas âge, il est le fait de fièvre, de péricardite, de cardiomyopathie ou d'insuffisance rénale.

Le tableau biologique est caractérisé par des anomalies quantitatives et qualitatives. Les anomalies quantitatives sont multiples [27] mais non spécifiques, contrairement aux anomalies qualitatives qui permettent le diagnostic.

Le diagnostic biologique du CDGS de type I repose sur la mise en évidence d'anomalies de glycosylation des N-glycosylprotéines sériques; ces anomalies consistent en une occupation partielle des sites de glycosylation des N-glycosylprotéines, comme cela a été démontré en étudiant la structure de la transferrine. La transferrine, qui possède normalement deux chaînes glycanes sialylées, est présente dans le sérum de patients CDGS de type I sous forme de transferrine à nombre de chaînes glycanes variable (deux, une et zéro) [28] (figure 5). Un grand nombre de N-glycosylprotéines sériques d'origine hépatique sont aussi anormalement glycosylées [29].

Le typage plus fin du CDGS de type I se poursuit par la mesure de l'activité intracellulaire des enzymes en cause, à savoir la PMM et la PMI, sur leucocytes ou sur fibroblastes en culture. Ces deux enzymes sont partie intégrante du métabolisme du mannose (figure 2): la PMM est un passage obligé du mannose 6-phosphate au mannose 1-phosphate; la PMI permet la production de

mannose 6-phosphate à partir du métabolisme du glucose. Les patients déficients en activité PMM (type Ia) représentent actuellement 70 % des CDGS de type I [30]. Les patients déficients en activité PMI (type Ib) représenteraient 5 % des CDGS de type I [31]. Les autres sont appelés type Ib dans la mesure où le trouble primaire est encore inconnu. Ce trouble peut virtuellement se situer à chaque étape qui mène du mannose 1-phosphate au dolichyl-pyrophospho-oligosaccharide. Ainsi, un autre déficit enzymatique dans le réticulum endoplasmique, la dolichyl-phosphate glucosyltransférase, vient d'être récemment décrit dans une famille [32]. Okhura *et al.* [33], d'après leurs observations, s'orientent vers un trouble de la synthèse du dolichol et ont suggéré la mise en cause de la déhydrodolichol réductase.

En fonction du déficit enzymatique observé (PMM ou PMI), les mutations du gène correspondant sont recherchées. Le gène *PMM2*, situé sur le chromosome 16p13, est le gène impliqué dans le déficit en activité PMM, les patients étudiés étant très fréquemment hétérozygotes composites. Le diagnostic anténatal est proposé sur la base de la mesure de l'activité enzymatique PMM des trophoblastes et des cellules amniotiques en culture et de la recherche des mutations sur le gène *PMM2*. L'étude du gène de la PMI de

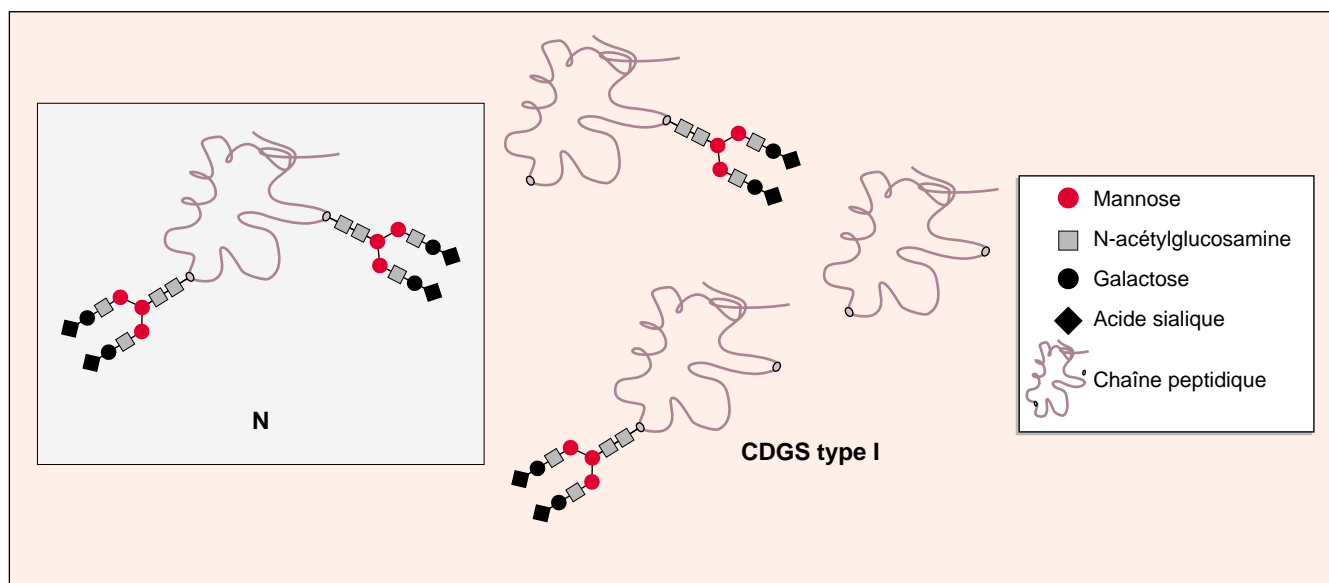


Figure 5. **Représentation schématique de la transferrine sérique chez le sujet sain (N) et chez le sujet atteint de CDGS de type Ia ou Ib (CDGS de type I).** La transferrine présente dans le sérum de sujets sains comporte deux chaînes glycanes, alors que, chez le sujet atteint de CDGS de type I, trois formes différentes, à 2, 1 et zéro chaînes glycanes, coexistent dans le sérum.

4 des 7 patients publiés montre aussi une hétérozygotie composite [31].

Mannose et CDGS de type I

Au cours du CDGS de type I, l'anomalie de glycosylation ne porte que sur le nombre de chaînes glycanes. Les oligosaccharides des N-glycosylprotéines sériques, lorsqu'elles sont présentes, sont comparables à ceux des sujets non atteints: de type complexe, avec une maturation normale à travers les différents compartiments du Golgi. Le trouble ne touche donc pas un autre type de glycosylprotéines, les O-glycosylprotéines moins fréquentes dans le sérum que les N-glycosylprotéines et dont la synthèse commence dans le *cis*-Golgi. Il s'agit donc d'une anomalie prégolgiennne. Aucune étude n'a encore rapporté d'anomalies des glycosylprotéines à ancrage GPI.

Dans les fibroblastes en culture des patients CDGS de type I, on observe des altérations de la synthèse des N-glycosylprotéines, mettant en cause le métabolisme du mannose. Plusieurs équipes ont exploré les étapes précoces de la synthèse des glycosylprotéines sur des fibroblastes de CDGS de type I en culture. Le contenu en dolichyl-phosphate, l'activité de la GlcNAc-1-P transférase et le transfert enzymatique par la N-oligosaccharyltransférase de l'oligosaccharide à partir du dolichyl-pyrophospho-oligosaccharide sur la partie peptidique ne sont pas affectés chez les patients CDGS de type I. En revanche, il a été montré une diminution d'incorporation du mannose dans la fraction précipitable par l'acide trichloracétique (protéines) des fibroblastes de CDGS de type I [34], ce qui indique une sous-glycosylation des glycosylprotéines intracellulaires. L'étude des précurseurs des glycosylprotéines dans le réticulum endoplasmique a montré que le dolichyl-pyrophospho-oligosaccharide était en quantité diminuée et de composition différente dans les fibroblastes de CDGS de type I (réduction du nombre de mannose de 9 à 4-5) [34].

Le transport du mannose à travers la membrane plasmique a aussi été mis en cause. L'existence d'un transport spécifique du mannose a été mis en évidence récemment; il possède des

caractéristiques qui diffèrent selon le type cellulaire étudié [4, 5, 34]. Dans deux lignées de fibroblastes CDGS de type I, il a été observé une diminution du transport du mannose [35]. Cependant, cette étude ancienne a été effectuée sur les cellules de patients dont le déficit enzymatique n'était pas défini. En revanche, une étude récente, faite sur des cellules provenant d'un plus grand nombre de malades et dont le déficit enzymatique était clairement identifié, montre que cette diminution n'est pas généralisable [36].

Malgré le déficit total en activité PMM/PMI au cours des CDGS de type Ia et Ib, les N-glycosylprotéines observées dans le sérum ne sont que partiellement privées de leurs oligosaccharides [27, 28]. Pour une glycosylprotéine donnée, il coexiste dans le sérum une population conservant toutes ses chaînes oligosaccharidiques à côté de celles auxquelles il manque une ou plusieurs chaînes. Une voie métabolique alterne à la voie passant par la PMM/PMI et produisant des formes actives du mannose utilisables par le réticulum endoplasmique, pourrait être envisagée comme hypothèse pour expliquer la structure des glycosylprotéines sériques. Une autre voie pourrait concerner le niveau de synthèse protéique des différents types cellulaires étudiés.

Mannose et traitement du CDGS de type Ib

Les deux types de CDGS de type I (Ia et Ib) sont caractérisés par la présence de mêmes N-glycosylprotéines sériques anormalement glycosylées. Les présentations cliniques ont un certain nombre de points communs, comme l'hépatomégalie associée à une cytolysse et à des troubles majeurs de la coagulation. Au cours du CDGS de type Ib, cependant, on n'observe ni troubles neurologiques, ni rétinopathie, ni cardiopathie, alors que ces signes sont des signes d'appel forts du CDGS de type Ia. Enfin, le CDGS de type Ib se distingue du type Ia par la nature de l'enzyme déficitaire: la PMI. La PMI occupe une position clé en marge du métabolisme du mannose puisqu'elle sert d'interface entre celui-ci et la voie de la glycolyse. Cette particularité permet

d'envisager de supplémenter la cellule en mannose 6-phosphate sans que celui-ci provienne de la voie de la glycolyse, par un apport extérieur en mannose libre.

Les quelques études menées sur l'administration du mannose ont eu des objectifs différents: d'abord approcher le métabolisme du mannose, puis très récemment un intérêt thérapeutique.

Le mannose peut être administré par voie orale à des doses allant de 0,05 à 0,2 g/kg poids corporel sans effets secondaires notables [37]. Au-delà, il est noté une diarrhée osmotique et des ballonnements intestinaux, éventuellement accompagnés d'une torpeur. Le mannose, sous sa forme β D-mannopyranose (figure 1) (65% du mannose en solution aqueuse) est amer, d'où la nécessité de le diluer dans une solution masquant son goût. Les diluants sont sans effet sur l'absorption intestinale et les effets secondaires.

La charge *per os* en mannose s'accompagne d'une augmentation de la mannosémie avec un pic une à deux heures après l'ingestion [38]. Le retour à la normale se fait en 5 à 6 heures, la demi-vie apparente est de 4 heures. L'absorption étant variable d'un sujet à l'autre, l'augmentation de la concentration sérique peut varier du simple au double pour une même dose administrée. Elle dépasse néanmoins 150 μ mol/l pour une charge de 0,2 g/kg. L'administration en plusieurs fois (0, 3, 6 heures) dans la journée permet un maintien de la mannosémie pendant au moins 10 heures au-delà de 100-150 μ mol/l [38].

Une seule expérience de charge en mannose par voie veineuse a été publiée [39]. Elle concerne un enfant traité pendant 3 semaines à raison de 2 g/kg/jour la première semaine puis par 5,7 g/kg/jour pendant les deux semaines suivantes. Il n'y a pas eu d'effets secondaires (hépatique ou rénal). La mannosémie était alors maintenue à 2000 μ mol/l. A l'arrêt du traitement, elle est revenue à la normale en 2 heures.

Le traitement par le mannose au cours du CDGS de type I a été tenté sur le type Ia et Ib, avec un résultat différent. Les patients ont dans l'ensemble bien supporté le traitement. Dans le type Ia, aucune amélioration n'a été notée [38]. A l'inverse, deux enfants atteints

de CDGS de type Ib ont été traités et une très nette amélioration de leur état général a été observée : les troubles de la coagulation ont disparu, et les signes majeurs menaçant leur pronostic vital – l'entéropathie exsudative et la diarrhée profuse pour l'un et l'hypoglycémie pour l'autre – ont totalement disparu [31]. L'anomalie de glycosylation des N-glycosylprotéines sériques reste néanmoins présente au-delà d'un an.

Aucune information n'est encore disponible sur les effets à long terme du traitement par le mannose.

Conclusions

Si le mannose reste un ose encore discret, les troubles majeurs observés au cours du CDGS de type I nous prouvent qu'il est un acteur incontournable dans la cellule et en particulier dans la synthèse des N-glycosylprotéines.

Il a été montré, chez le rat, que les organes les plus actifs dans l'incorporation du mannose dans les N-glycosylprotéines sont dans l'ordre décroissant le foie, l'intestin et le cerveau [6]. Bien que ces résultats restent à confirmer chez l'homme, il est intéressant de remarquer que ce sont ces organes qui présentent des dysfonctionnements majeurs chez les patients atteints de CDGS de type Ia. En revanche, chez les patients atteints de CDGS de type Ib, seuls le foie et l'intestin sont touchés, sans atteinte cérébrale. Ces observations suggèrent que, lorsque l'activité de synthèse des N-glycosylprotéines est importante, les besoins en GDP-mannose sont assurés par un apport en glucose et en mannose. Les voies de synthèse des N-glycosylprotéines dépendantes de la PMI ne sont pas nécessaires dans des tissus ayant une activité de synthèse plus faible. Ces hypothèses sont renforcées par le fait qu'aucune anomalie de glycosylation des protéines d'origine hépatique n'est détectée à l'état fœtal chez des sujets pour lesquels le diagnostic du CDGS de type Ia est pourtant posé cliniquement dès la naissance. Une explication à cette étonnante contradiction pourrait se trouver dans une plus faible activité métabolique et de synthèse des N-glycosylprotéines dans le foie fœtal par rapport au foie du nouveau-né.

Se poser la question, surprenante et peut-être d'apparence désuète, de l'origine du mannose des chaînes oligosaccharidiques des N-glycosylprotéines est en fait d'actualité. Elle conduit aujourd'hui à réviser notre vision du glucose comme source des hexoses entrant dans la composition des chaînes oligosaccharides de certains glycoconjugués.

L'étude du métabolisme du mannose, jusque-là inconnu chez l'homme, doit être envisagée au travers des acquis récents de la biologie cellulaire : transport spécifique du mannose, indépendant de celui du glucose, contrôle de qualité des glycosylprotéines synthétisées dans le réticulum endoplasmique, devenir des oligosaccharides libres. Enfin le métabolisme du mannose est un modèle pour apprécier l'importance du recyclage lysosomal dans la synthèse des macromolécules ■

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier l'association «Vaincre les maladies lysosomales» dont le soutien financier a permis la réalisation d'une partie des travaux présentés et les recherches actuelles de S. Moore.

RÉFÉRENCES

1. Hirabayashi J. On the origin of elementary hexoses. *Quart Rev Biol* 1996; 71: 365-80.
2. Jaeken J, Carchon H. The carbohydrate-deficient glycoprotein syndromes: an overview. *J Inher Metab Dis* 1993; 16: 813-20.
3. Herman R. Mannose metabolism. *Am J Clin Nutr* 1971; 24: 488-98.
4. Ogier-Denis E, Blais A, Hourii JJ, Voisin T, Trugnan G, Codogno P. The emergence of a basolateral 1-deoxymannojirimycin-sensitive mannose carrier is a function of intestinal epithelial cell differentiation – evidence for a new inhibitory effect of 1-deoxymannojirimycin on facilitative mannose transport. *J Biol Chem* 1994; 269: 4285-90.
5. Panneerselvam K, Freeze HH. Mannose enters mammalian cells using a specific transporter that is insensitive to glucose. *J Biol Chem* 1996; 271: 9417-21.
6. Alton G, Hasilik M, Niehues R, et al. Direct utilization of mannose for mammalian glycoprotein biosynthesis. *Glycobiology* 1998; 8: 285-95.
7. Panneerselvam K, Etchison JR, Freeze HH. Human fibroblasts prefer mannose over glucose as a source of mannose for N-glycosylation. Evidence for the functional importance of transported mannose. *J Biol Chem* 1997; 272: 23123-9.
8. Kornfeld R, Kornfeld S. Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu Rev Biochem* 1985; 54: 631-63.
9. Nilsson R, Peterson E, Dallner G. Permeability of microsomal membranes isolated from rat liver. *J Cell Biol* 1973; 56: 762-76.
10. Moore S. Transport of free polyman-nose-type oligosaccharides from the endoplasmic reticulum into the cytosol is inhibited by mannosides and requires a thapsigargin-sensitive calcium store. *Glycobiology* 1998; 8: 373-81.
11. White MD, Ward S, Kuhn NJ. Pore properties of the Golgi membrane from lactating-rat mammary gland. *Biochem J* 1984; 217: 297-301.
12. Waddell ID, Zomerschoe AG, Voice MW, Burchell A. Cloning and expression of a hepatic microsomal glucose transport protein: comparison to GLUT 2. *Biochem J* 1992; 285: 173-7.
13. Ogier-Denis E, Couvineau A, Maoret JJ, et al. A heterotrimeric Gi3-protein controls autophagic sequestration in the human colon cancer cell line HT-29. *J Biol Chem* 1995; 270: 13-6.
14. Villers C, Cacan R, Mir AM, Labiau O, Verbert A. Release of oligomannoside-type glycans as a marker of the degradation of newly synthesized glycoproteins. *Biochem J* 1994; 298: 135-42.
15. Wiertz EJHJ, Tortorella D, Bogyo M, et al. Sec61-mediated transfer of a membrane protein from the endoplasmic reticulum to the proteasome for destruction. *Nature* 1996; 384: 432-8.
16. Kmićcik D, Herman V, Stroop CJM, et al. Catabolism of glycan moieties of lipid intermediates leads to a single Man5GlcNAc oligosaccharide isomer: a study with permeabilized CHO cells. *Glycobiology* 1995; 5: 483-94.
17. Moore SEH, Bauvy C, Codogno P. Endoplasmic reticulum-to-cytosol transport of free polymannose oligosaccharides in permeabilized HepG2 cells. *EMBO J* 1995; 14: 6034-42.
18. Haeuw JF, Strecker G, Wieruszkeski JM, Montreuil J, Michalski JC. Substrate specificity of rat liver cytosolic α -D-mannosidase. *Eur J Biochem* 1991; 202: 1257-68.
19. Saint-Pol A, Bauvy C, Codogno P, Moore SEH. Transfer of free polymannose-type oligosaccharides from the cytosol to lysosomes in cultured human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *J Cell Biol* 1997; 136: 45-59.
20. Mancini G, Beerens C, Verhagen FW. Glucose transport in lysosomal vesicles. *J Biol Chem* 1990; 265: 12380-7.
21. Jonas AJ, Speller RJ, Conrad PB, Dubinsky WP. Transport of N-acetyl-D-glucosamine and N-acetyl-D-galactosamine by rat liver lysosomes. *J Biol Chem* 1989; 264: 4953-6.
22. Mendelssohn DC, Silverman M. A D-mannose transport system in renal brush-border membranes. *Am J Physiol* 1989; 257: F1100-7.

RÉFÉRENCES

23. Freinkel N, Lewis N, Akazawa S, Roth S, Gorman L. The honeybee syndrome-implications of the teratogenicity of manose in rat-embryo culture. *N Engl J Med* 1984; 310: 223-30.
24. Liu Z, Carone F, Dalecki T, Lelongt B, Wallner E, Kanwar Y. Mannose-induced dysmorphogenesis of metanephric kidney. *J Clin Invest* 1992; 90: 1205-18.
25. Akazawa S, Metzger B, Freinkel N. Relationship between glucose and mannose during late gestation in normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 984-9.
26. Panneerselvam K, Etchinson J, Skovby F, Freeze H. Abnormal metabolism of mannose in families with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *Biochem Mol Med* 1997; 61: 161-7.
27. Jaeken J, Matthijs G, Barone R, Carchon H. Carbohydrate deficient glycoprotein (CDGS) syndrome type I. *J Med Genet* 1997; 34: 73-6.
28. Yamashita K, Ideo K, Ohkura T, et al. Sugar chains of serum transferrin from patients with carbohydrate deficient glycoprotein syndrome. *J Biol Chem* 1993; 268: 5783-9.
29. Seta N, Barnier A, Hochedez F, Besnard MA, Durand G. Diagnostic value of western blotting in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Clin Chim Acta* 1996; 254: 131-40.
30. Matthijs G, Schollen E, Pardon E, et al. Mutations in PMM2, a phosphomannomutase gene on chromosome 16p13, in carbohydrate deficient glycoprotein type I syndrome. *Nat Genet* 1997; 16: 88-92.
31. Nihues R, Hasilik M, Alton G, et al. Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ib: Phosphomannose isomerase deficiency and mannose therapy. *J Clin Invest* 1998; 101: 1414-20.
32. Burda P, Borsig L, de Rijk-van Andel J, et al. A novel carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome characterized by a deficiency in glucosylation of the dolichol-linked oligosaccharide. *J Clin Invest* 1998; 102: 647-52.
33. Ohkura T, Fukushima K, Kurisaki A, et al. A partial deficiency of dehydrodolichol reduction is a cause of carbohydrate deficient glycoprotein syndrome type I. *J Biol Chem* 1997; 272: 6868-75.
34. Powell LD, Paneerselvam K, Vij R, et al. Carbohydrate deficient glycoprotein syndrome: not an N-linked oligosaccharide processing defect, but an abnormality in lipid-linked oligosaccharide biosynthesis? *J Clin Invest* 1994; 94: 1901-9.
35. Panneerselvam K, Freeze HH. Mannose corrects altered N-glycosylation in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome in fibroblasts. *J Clin Invest* 1996; 97: 1478-87.
36. Dupré T, Ogier-Denis E, Moore SEH, et al. Alterations of mannose transport in fibroblasts from type I carbohydrate deficient glycoprotein syndrome patients. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1453: 369-77.
37. Wood F, Cahill G. Mannose utilization in man. *J Clin Invest* 1963; 42: 1300-12.
38. Alton G, Kjaergaard S, Etchinson J, Skovby F, Freeze H. Oral ingestion of mannose elevates blood mannose levels: a first step toward a potential therapy for carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *Biochem Mol Med* 1997; 60: 127-33.
39. Mayatepek E, Kohlmüller D, Bieger W, Nützenadel W. Continuous mannose infusion in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *Acta Paediatr* 1997; 86: 1138-40.

Summary

Mannose metabolism and carbohydrate deficient glycoprotein syndrome type I

Monosaccharide mannose is a constituent of glycoproteins bearing N-linked oligosaccharide chains and the glycolipid anchors that enable proteins without membrane spanning domains to associate with cellular membranes. With, on the one hand, the description of Carbohydrate-Deficient Glycoprotein Syndrome (CDGS), a group of metabolic diseases in which glycoprotein biosynthesis is severely impaired, and, on the other, the recent identification of specific mannose transporters, our view of the metabolism of mannose, and its relationship with glucose metabolism is changing. These new insights into the metabolism of mannose has led to the proposal of therapies for certain types of CDGS.

TIRÉS À PART

N. Seta.

LES JOURNÉES DE LA DERMATITE ATOPIQUE

Vendredi 19 et samedi 20 mai 2000

Organisateurs : AFPADA

Association française des Personnes Atteintes de Dermatite Atopique

Lieu : École Normale Supérieure de Lyon

Vendredi 19 mai

Ouverture du congrès (AFPADA) • Présentation clinique de la DA (Pr Béatrice Crickx) • Physiopathologie, Développement de l'atopie chez le fœtus, le nouveau-né et le nourrisson (Pr Thomas Bieber) • Le syndrome dermo-respiratoire (Dr Marie-Thérèse Guinépain) • Infections et DA (Pr Jean-François Stalder) • Comprendre la DA (Dr Sylvie Consoli) • Place de l'allergie dans la DA (Dr Gisèle Kanny) • Immunité muqueuse dans la DA (Dr Claude André) • Diététique de l'enfant atopique (Mme Patricia Sergeant) • Eczéma de contact et DA (Dr Annick Barbaud) • Quels tests dans la DA (Dr Michel Castelain) • Orientation professionnelle de la dermatite (Pr Christian Géraud)

Samedi 20 mai

Traitements de la DA (Pr Frédéric Cambazard) • Les Immunosuppresseurs (Pr Yves de Prost) • Photothérapie (Dr Pierre Fortier) • Étude ETAC (Pr Alain Taieb) • Perspectives thérapeutiques (Pr Jean-François Nicolas) • Table Ronde (entre les participants et les orateurs) : « Les questions que l'on se pose sur la DA »

Secrétariat Scientifique :

Association française des Personnes Atteintes de Dermatite Atopique (AFPADA)
BP 36, 77982 Saint-Fargeau-Ponthierry Cedex, France - Tél. Fax (+33) (0)1 60 65 79 05

Secrétariat Technique-Inscriptions :

Société Bawan Stratégie - Gilles Barbier - Immeuble le Rive gauche/12, rue de Cavenne/69007 Lyon, France. Tél. (+33) (0)4 78 61 09 09 - Fax : (+33) (0)4 72 71 81 06 - e-mail : bawan@mediasites.com