

## COMMUNICATION

### La vitamine B12 et les maladies génétiques associées

MOTS-CLÉS : VITAMINE B12. MALADIES ERREURS INNÉES DU MÉTABOLISME

#### *Vitamin B12 and related genetic disorders*

KEY WORDS: VITAMIN B 12. METABOLISM, INBORN ERRORS

Jean-Louis GUÉANT \*, David COELHO \* et Jean-Pierre NICOLAS \*

**Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêt en relation avec le contenu de cet article.**

#### RÉSUMÉ

*La vitamine B12 (B12, cobalamine (Cbl)) est une vitamine hydrosoluble qui nécessite des mécanismes très complexes pour son assimilation, son transport sanguin et son métabolisme intra-cellulaire. Trois protéines, le facteur intrinsèque (FI), l'haptocorrine (HC) et la transcobalamine (TC), ainsi que leurs récepteurs spécifiques sont impliqués dans son absorption et son transport. Les carences acquises ou héréditaires se traduisent par une anémie mégaloblastique et des manifestations neurologiques. Plusieurs maladies génétiques sont en lien avec l'absorption et le transport, les déficits héréditaires en FI, en TC et la maladie d'Imerslund-Gräsbeck. Dans les cellules de mammifères, seuls deux enzymes dépendent de la vitamine B12 : la L-méthylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2) dans la mitochondrie et l'homocystéine méthyltransférase, aussi appelée méthionine synthase (EC 2.1.1.13), dans le cytoplasme. Les conséquences métaboliques directes d'une déficience en B12 sont respectivement l'accumulation d'acide méthylmalonique (MMA) et d'homocystéine (HCy). Plus d'une dizaine de gènes interviennent dans le métabolisme intracellulaire de la B12, correspondant à plusieurs maladies nommées de cblA à cblJ. Cette revue englobe les différentes étapes de l'absorption, du transport et du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 ainsi que des principaux défauts génétiques qui y sont associés.*

#### SUMMARY

*Vitamin B12 (B12, cobalamin (Cbl)) is a water-soluble vitamin that requires complex mechanisms for its assimilation, blood transport and intracellular metabolism. Three*

\* Inserm U-954, Nutrition-Génétique-Exposition aux risques environnementaux, Faculté de Médecine, Université de Lorraine et Centre de Référence des Maladies Héréditaires du Métabolisme, CHU de Nancy, Nancy, France : e-mail : Jean-Louis.Gueant@univ-lorraine.fr

Tirés à part : Professeur Jean-Louis GUÉANT, Inserm U954, Faculté de Médecine, 9 Avenue de la Forêt de Haye, 54500 Vandœuvre les Nancy

Article reçu le 1<sup>er</sup> juin 2014, accepté le 23 juin 2014

*proteins, intrinsic factor (IF), haptocorrin (HC), and transcobalamin (TC), and their specific receptors are involved in B12 absorption and transport. Acquired and inherited deficiencies can result in megaloblastic anemia and neurological manifestations. Several genetic diseases are linked to these two steps, namely inherited deficits in FI and TC, and Imlerslund-Gräsbeck disease. In mammalian cells, only two enzymes depend on vitamin B12: L-methylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2) in mitochondria, and methionine synthase (EC 2.1.1.13) in cytoplasm. Direct metabolic consequences of impaired B12 absorption and metabolism are the accumulation of methylmalonic acid (MMA) and of homocysteine (HCy), respectively. More than a dozen genes are involved in the intracellular metabolism of B12, and their defects result in several diseases designated cblA through cblJ. This article reviews the steps involved in vitamin B12 absorption, transport and intracellular metabolism, and the main related genetic defects.*

## INTRODUCTION

La vitamine B12 (B12, cobalamine (Cbl)) est une vitamine hydrosoluble dont la structure très complexe rappelle l'extrême complexité des mécanismes par lesquels cette vitamine est transportée et assimilée. Trois protéines, le facteur intrinsèque (FI), l'haptocorrine (HC) et la transcobalamine (TC), ainsi que leurs récepteurs spécifiques sont impliqués dans ces processus. L'anémie de Biermer est la cause de carence la plus connue. Les mécanismes moléculaires des symptômes des carences acquises et héréditaires ne sont pas bien élucidés. Dans les cellules de mammifères, seuls deux enzymes dépendent de la vitamine B12 : la L-méthylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2) dans la mitochondrie et l'homocystéine méthyltransférase, aussi appelée méthionine synthase (EC 2.1.1.13), dans le cytoplasme. Les conséquences métaboliques directes de la carence sont respectivement l'accumulation d'acide méthylmalonique (MMA) et d'homocystéine (HCy). Des données récentes suggèrent que les carences en B12 produisent des effets sur la prolifération et la différenciation cellulaires, qui sont liées à des mécanismes nutriginomiques et épigénétiques associés au rôle de la B12 dans la synthèse de la S-adenosylméthionine (SAM). Ce substrat est le donneur universel de groupement méthyle impliqué dans la méthylation des régulateurs de récepteurs nucléaires, des histones, de l'ADN et de petits composés métaboliques. Cette revue englobe les différentes étapes de l'absorption, du transport et du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 ainsi que des principaux défauts génétiques qui y sont associés.

## VITAMINE B12 : STRUCTURE, SYNTHÈSE, APPORTS NUTRITIONNELS

### Structure

La vitamine B12, aussi appelée cobalamine (Cbl) est un micronutriment essentiel à la vie dans le règne animal. Elle appartient à la famille des corrinoïdes dont les autres membres dépourvus d'activité vitaminique sont appelés analogues. Le ligand, symétrique du ribonucléotide par rapport au plan, est variable et labile (Fig. 1). Cela peut être un groupe hydroxyle (hydroxocobalamine, OHcbl) forme recommandée

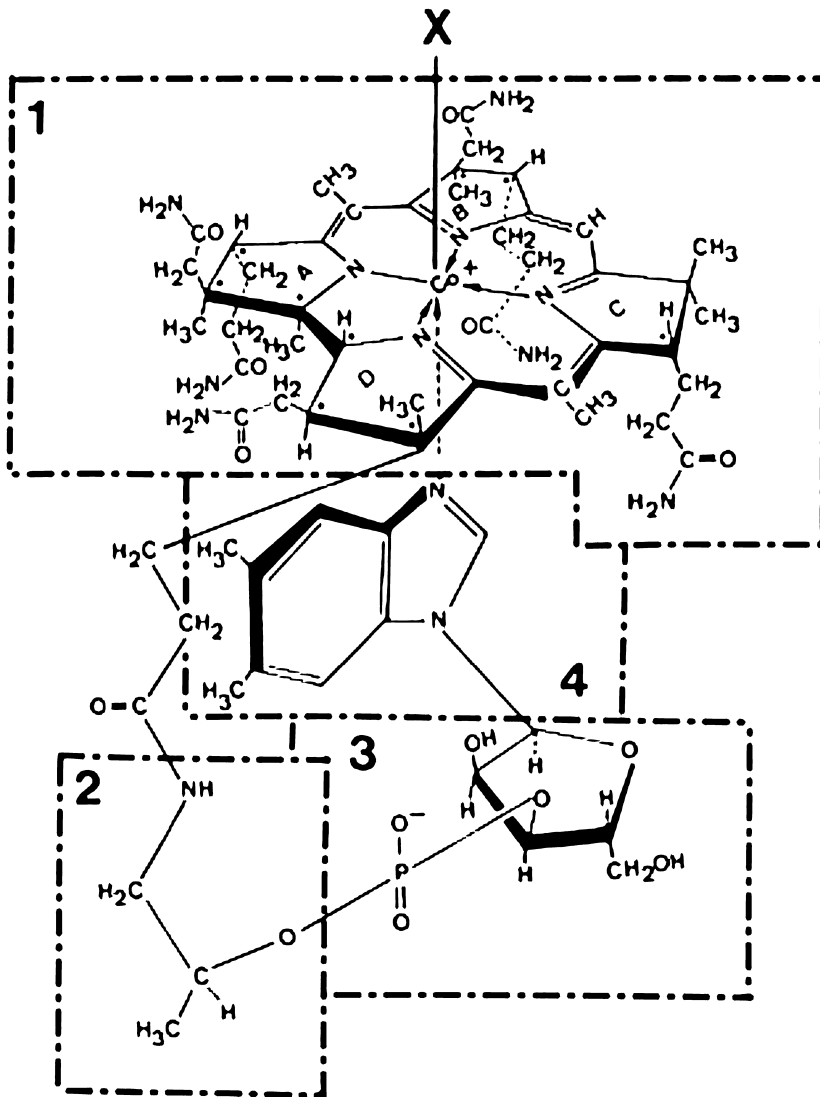


FIG. 1. — Structure des cobalamines (isoformes cellulaires et circulantes de la vitamine B12). La vitamine B12 est une 5,6-diméthylbenzimidazole-cobamide. Les cobamides sont obtenus par addition, sous la structure plane tétrapyrrolique (position alpha), d'un ribonucléotide lié au cobalt et d'un pyrrol D aminopropanol, et au-dessus du plan (position beta) d'un second ligand coordonnant l'atome de cobalt. Une de ces caractéristiques structurales de la vitamine B12 est d'être la seule molécule connue dans la nature ayant un ribonucléotide incorporant une base 5,6-diméthyl-benzimidazole. 1: groupe Tétrapyrrol ; 2: amino-1-propanol-2, 3: groupe ribose-3P ; 4: groupe 5,6-diméthyl-benzimidazole, X: groupe hydroxyle, méthyle, 5'-désoxy, cyanate ou adénosyle.

pour traiter les déficiences en Cbl), un groupement méthyle (méthylcobalamine, MeCbl) le cofacteur de la méthionine synthase), ou le nucléoside 5'-déoxyadénosine (5'-déoxyadénosyl-cobalamine, AdoCbl) le coenzyme de la méthylmalonyl-coA mutase. Des traces d'aquacobalamine et de cyanocobalamine (CNCbl) sont aussi retrouvées dans la circulation sanguine.

### **Origine, synthèse et source alimentaire de la vitamine B12**

Les métazoaires sont dépourvus de gène codant pour la synthèse de B12. En fait, la vitamine B12 est uniquement synthétisée par des bactéries, des levures et peut-être quelques algues [1]. Certaines de ces bactéries sont présentes dans le rumen des herbivores, ce qui explique pourquoi ces animaux ne sont pas déficients en B12 en dépit de l'absence d'apport alimentaire. Néanmoins, la synthèse de B12 par la flore microbienne intestinale dépend de l'apport nutritionnel en cobalt ; chez d'autres mammifères comme les rongeurs, l'apport est assuré par la coprophagie qui permet l'assimilation de la B12 synthétisée par la flore du colon. La faune aquatique peut métaboliser la B12 produite par des bactéries environnementales. Les nutriments contenant la vitamine B12 sont d'origine animale, comme la viande, le foie, les reins, les œufs, le lait, le poisson et les fruits de mer [1].

### **Régime alimentaire et apports journaliers**

Dans les pays occidentaux, un régime alimentaire normal procure de 5 à 10  $\mu\text{g}$  de vitamine B12 par jour, quel que soit l'âge. D'autres populations ingèrent moins d'1  $\mu\text{g}$  par jour sans développer de déficit en B12. La concentration totale d'homocystéine est généralement plus élevée chez les végétariens que chez les omnivores, ce qui indique un apport insuffisant en B12. Les signes cliniques hématologiques et/ou neurologiques dus à une carence en B12 sont rares chez les végétariens, sauf en cas de pathologies liées à une diminution de l'absorption ou de besoins accrus lors de la grossesse [2]. Le statut en vitamine B12 est variable dans la population mondiale et le taux le plus élevé de déficience alimentaire se retrouve dans le sous-continent indien [2].

## **MÉTABOLISME DIGESTIF DE LA VITAMINE B12 (Figure 2)**

### **Étape gastrique**

Deux mécanismes interviennent au niveau gastrique, la libération de B12 des protéines alimentaires et sa liaison aux transporteurs endogènes. La cuisson des aliments et l'acidité du suc gastrique et la pepsine aident à la libération de la B12 [3]. Une fois libérée, la B12 se retrouve en présence de deux transporteurs endogènes, l'HC et le FI. L'HC provient essentiellement de la salive et contribue à 10-40 % de la capacité de liaison avec la vitamine B12 du suc gastrique. Son affinité pour la B12 est plus importante que celle du FI au pH très acide de l'estomac. Le FI est une protéine

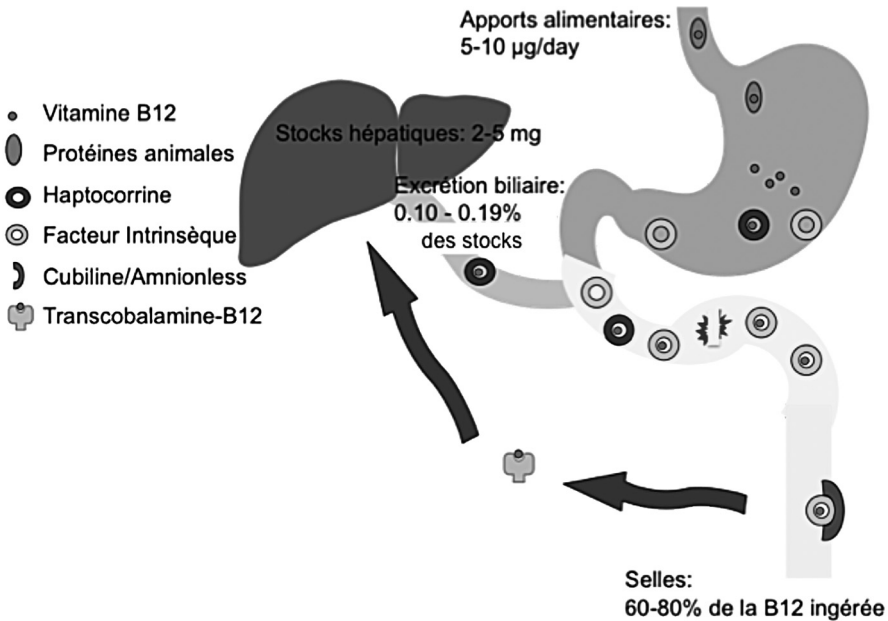


FIG. 2. — Vue schématique de l'absorption et du métabolisme digestif de la vitamine B12.

de transport produite par les cellules pariétales qui facilite l'assimilation de la vitamine B12 dans l'iléon par endocytose de son récepteur. Le gène du FI (*GIF*) est situé en position 11q13 et code pour une protéine de 417 acides aminés [4]. La masse moléculaire du FI est de 45 kDa mais atteint 58-60 kDa après glycosylation [5]. Le FI lie environ 30-50 pmol de B12 par ml de suc gastrique et la sécrétion quotidienne est supérieure aux apports journaliers de B12. Le FI se lie spécifiquement à la B12.

### Étape duodénale et cycle entérohépatique

Le duodénum est le carrefour de trois fluides, le suc gastrique, la bile et le suc pancréatique. Durant cette étape clef du métabolisme digestif de la vitamine B12, l'HC est partiellement dégradée par des protéases pancréatiques [6, 7]. Par contre, le FI demeure intact en présence des protéases pancréatiques, *in vitro* et *in vivo*. Son affinité pour la B12 n'est pas modifiée et devient supérieure à celle de l'HC partiellement dégradée ce qui conduit au transfert de la B12 de l'HC vers le FI [6, 7]. Un cycle entérohépatique de la B12 a été mis en évidence chez l'homme, le porc et le rat [8]. La présence de FI biologiquement actif et insaturé a été détectée dans le liquide intestinal jusque dans l'iléum distal.

### Absorption du complexe FI-B12 dans les entérocytes de l'iléon distal

Deux mécanismes sont impliqués dans l'absorption de la B12 dans l'iléon, la diffusion passive et l'absorption par le récepteur spécifique du complexe FI-B12. La diffusion passive intervient seulement aux concentrations supra physiologiques de 100 à 1000 microgrammes. L'absorption par le récepteur du complexe FI-B12 est le mécanisme physiologique préférentiel pour la vitamine B12 apportée par la nourriture. La quantité maximale absorbée par cette voie est de 1.5 µg [9]. L'expression du récepteur est restreinte à l'iléum distal chez l'adulte, alors qu'elle est distribuée dans tout l'intestin chez l'embryon [10]. Les cellules dérivées de cancer du colon expriment le récepteur du FI à leur surface [11]. La liaison du complexe FI-B12 à la muqueuse requiert un pH compris entre 5.4 et 8.0 et la présence de calcium. Le récepteur est un complexe de grande taille appelé Cubam. Il est composé de la cubiline, une protéine de liaison multi-ligands, et de l'amnionless, une protéine transmembranaire [12, 13, 14]. En plus du complexe FI-B12, la cubiline peut lier et internaliser l'albumine, la transferrine et la protéine de liaison de la vitamine D. L'endocytose du complexe FI-B12 est rapide et commence dès 5 à 10 min après la liaison du complexe FI-B12 à son récepteur [16]. La B12 est orientée vers le côté basolatéral et elle est ensuite partiellement convertie en ses deux cofacteurs, Ado et MeCbl [16]. La synthèse de TC *in situ* est nécessaire à la transcytose de la B12 qui est ensuite libérée dans la partie basolatérale sous une forme complexée avec la TC [16].

### Les déficits héréditaires de l'absorption de la vitamine B12

Le déficit héréditaire en FI est une cause rare de carence en vitamine B12. La transmission est autosomique récessive et est caractérisée par un défaut de sécrétion du FI, une sécrétion acide normale et une absence de gastrite atrophique et d'auto-anticorps anti-FI. Un certain nombre de mutations du gène *GIF* conduisent à une perte de fonction et plusieurs polymorphismes ont été identifiés [17, 18]. La mutation c.290C>T (p.M97T) entraîne une diminution de l'affinité du FI pour la vitamine B12 alors que la mutation c.435-437delGAA (p.K145-N146delinsN) conduit à une perte de la capacité de liaison de la B12. Le FI est fucosylé durant le processus de sécrétion. Ceci pourrait expliquer pourquoi le variant sécrété de la fucosyltransférase 2 (FUT2) aggrave le statut B12 dans les cas de mutation hétérozygote de *GIF*. Ce mécanisme est indépendant de l'association de ce variant avec la gastrite liée à *Helicobacter Pylori*, qui peut produire un déficit d'absorption de la vitamine B12 alimentaire [19].

Dans l'anémie pernicieuse d'Addison-Biermer, le FI se comporte comme un auto-antigène qui est reconnu par deux types d'auto-anticorps. Le type 1 est le plus fréquent et bloque la liaison de la vitamine B12 avec le FI tandis que le type 2 prévient la liaison du FI avec son récepteur [20]. L'anémie pernicieuse est généralement observée après la sixième décennie. Elle peut aussi apparaître plus tôt, dans un contexte familial qui suggère une prédisposition génétique.

La maladie d'Imerslund-Gräsbeck (IGS), aussi appelée anémie mégaloblastique héréditaire de type 1, est un défaut rare et récessif de l'absorption intestinale de la vitamine B12, qui conduit à une anémie mégaloblastique, une réabsorption rénale déficiente et une protéinurie fréquente, occasionnellement accompagnées par des troubles mentaux. Elle résulte de mutations sur le gène de la cubiline (*CUBN*, OMIM 602997) ou le gène de la protéine amnionless (*AMN*, OMIM 605799) [21, 22], avec pour conséquences une diminution de l'activité de liaison du récepteur au complexe FI-B12 [22], l'expression d'un récepteur instable ou une diminution de l'affinité pour le FI-B12 [24]. La protéine amnionless est indispensable à l'expression de la cubiline au niveau de la membrane apicale des cellules épithéliales rénales et intestinales [25].

### **TRANSPORT SANGUIN ET DÉFICITS HÉRÉDITAIRES EN TRANSCOBALAMINE ET CD320**

Une fraction mineure de B12 (environ 20 %) est transportée par la TC dans le plasma [26]. La TC assure une fonction similaire à celle du FI gastrique en facilitant l'absorption de la B12 par la liaison du complexe TC-B12 à un récepteur spécifique de la membrane plasmique des cellules. Le gène codant pour la TC (*TCN2*) est situé sur 22 q11-13.1 et code pour une protéine de 409 acides aminés correspondant à une protéine sécrétée de 45.5 kDa [27]. Un polymorphisme situé sur le codon 259 a été mis en évidence et influence la transcription et la concentration cellulaire et plasmatique de la TC, et de fait la disponibilité de la B12 [27]. La TC se lie plus spécifiquement à la B12 que l'HC. Les cellules endothéliales sont la source principale de cette protéine dans le sang [26]. L'holo-TC a une demi-vie relativement courte dans le sang, de l'ordre de 1-2h, et est rapidement absorbée par les tissus. Ceci explique en partie pourquoi la TC circulante est principalement insaturée (70-80 %) [26].

Le récepteur de la TC (TCbIR) a fait l'objet d'une analyse des produits de la digestion de la protéine purifiée par la trypsine, ce qui a permis ensuite d'identifier le gène *CD320* [28]. La structure de cette protéine de 282 acides aminés permet de la classer parmi la famille des récepteurs LDL avec deux domaines LDLR de type A séparés par un domaine CUB-like, une région transmembranaire et un domaine cytoplasmique. Le complexe TC-Cbl est internalisé par endocytose clathrine-dépendante et est dégradé dans les lysosomes alors que le récepteur est recyclé vers la membrane plasmique.

La majeure partie de la B12 et de ses analogues est liée à l'HC dans le sérum. La B12 et les analogues liés à l'HC peuvent être captés par le récepteur des asialoglycoprotéines au niveau du foie et excrétés en partie dans la bile [29]. L'HC aurait ainsi un rôle dans la clairance des analogues de B12 dans la bile et dans le cycle entérohépatique de la B12.

### **Déficits héréditaires en transcobalamine et en CD320**

Le déficit héréditaire en TC est une maladie autosomique récessive qui conduit à une déplétion cellulaire et à une déficience clinique en Cbl [30]. Pour ces cas, le taux de Cbl plasmatique est généralement dans la normale car la plus grande partie de la Cbl circulante est liée à l'HC. Le déficit en TC est associé dans la petite enfance à une anémie sévère, un retard staturo-pondéral et quelquefois à des complications neurologiques incluant des retards psychomoteurs et de développement mental [30]. A ce jour, peu d'études génétiques ont été réalisées sur des patients déficients en TC et les différents défauts moléculaires mettent en évidence une hétérogénéité génétique pour cette maladie [30]. Dans une fratrie, les transcrits ont conduit à une délétion de 81 nucléotides dans le cadre de lecture et à la synthèse d'une protéine tronquée instable et non sécrétée par les cellules [31].

Une mutation du gène *CD320* avec délétion homozygote c.262\_264GAG (p.E88del) conduit à la perte d'un acide glutamique dans le domaine LDLR de type A. Elle est associée à un taux élevé d'acide méthylmalonique chez cinq nouveau-nés asymptomatiques dont les fibroblastes ont montré une diminution de l'absorption d'holo-TC [32].

## **MÉTABOLISME INTRACELLULAIRE DE LA VITAMINE B12 ET MALADIES GÉNÉTIQUES ASSOCIÉES**

### **Présentation générale du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12**

Après endocytose du complexe TC-Cbl, la vitamine B12 passe des lysosomes vers le cytoplasme avant d'être utilisée sous forme de cofacteur AdoCbl et MeCbl par les deux enzymes méthylmalonyl-CoA mutase (MUT) et méthionine synthase (MS). Selon l'hypothèse du piège à méthyle, le déficit en MeCbl bloque la déméthylation du méthyltétrahydrofolate. L'absence de régénération du tétrahydrofolate conduit au blocage de la conversion de l'uridine monophosphate (UMP) en desoxythymidine monophosphate (dTMP) et donc à celle de la synthèse d'ADN, expliquant en partie la mégaloblastose induite par la déficience en Cbl.

### **Maladies génétiques du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12**

Le phénotypage des fibroblastes de patients affectés par ces maladies génétiques conduit à la définition de groupes de complémentation nommés de cblA à cblJ et mut (Fig. 3). Les mutations qui bloquent le relargage lysosomal et les étapes cytoplasmiques communes à la synthèse des cofacteurs AdoCbl et MeCbl se traduisent sur le plan clinique par une anémie mégaloblastique, une atteinte neurologique, un retard de croissance et parfois une rétinopathie. Elles conduisent toutes à une augmentation importante de l'homocystéine et de l'acide méthylmalonique dans le plasma et dans les urines. Les mutations qui bloquent la voie de synthèse de



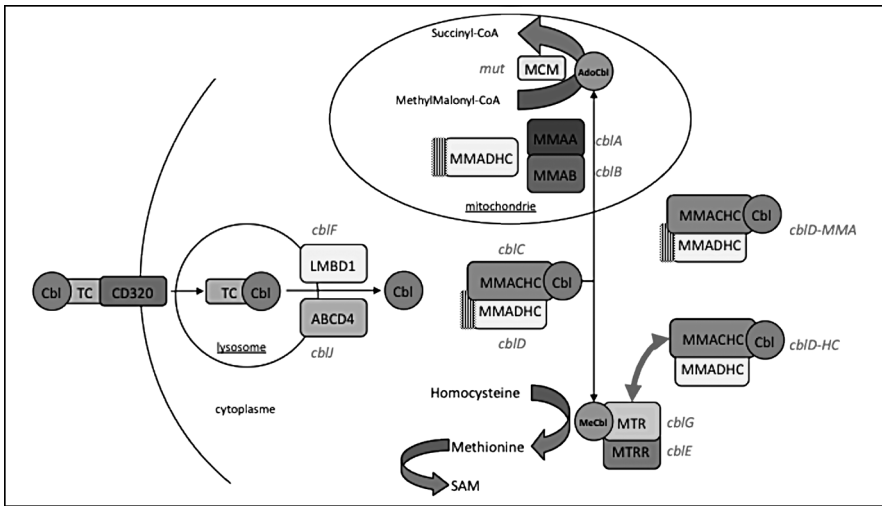


FIG. 3. — Le métabolisme intracellulaire de la vitamine B12. Les maladies rares du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 correspondent à une classification par tests de complémentation cellulaire (CblA-J, et mut).

l'AdoCbl se traduit par une encéphalopathie aiguë avec acidocétose, acidurie méthylmalonique, hyperammoniémie, hyperglycémie. Les mutations qui bloquent la voie de synthèse de la MeCbl se manifestent par une anémie mégalo-blastique, une hyperhomocystéinémie et une encéphalopathie dans les premiers mois de la vie.

### Relargage lysosomal

**cbfF (mutations du gène *LMBRD1*).** L'accumulation lysosomale de Cbl libre, non-liée à des protéines, a été initialement décrite dans des fibroblastes de deux patients présentant une MMA et une HCy, suggérant l'existence d'un système spécifique de transport de la Cbl du lysosome vers le cytoplasme. Ce défaut génétique a été classé en un nouveau groupe de complémentation appelé *cbfF* et le gène responsable de ce défaut, *LMBRD1*, n'a été identifié qu'en 2009 [33]. Il code la protéine LMBD1 (61.4 kDa) qui partage une certaine homologie avec une famille de protéines membranaires comprenant le récepteur LIMR dont les ligands se lient à de petites molécules présentes dans les fluides biologiques.

**cbfJ (mutations du gène *ABCD4*).** La découverte d'une protéine additionnelle impliquée dans le relargage lysosomal de la Cbl provient de la caractérisation d'un nouveau groupe de complémentation appelé *cbfJ* dont le gène associé est *ABCD4* [34]. Ce gène code pour ABCD4 (68.6 kDa), une protéine de fonction alors inconnue et membre de la famille D des transporteurs ABC. La probable fonction ATPase de ABCD4 pourrait être nécessaire au métabolisme intracellulaire de la Cbl.

### Étapes cytoplasmiques communes à la synthèse des cofacteurs AdoCbl et MeCbl

**cbIC (mutations du gène *MMACHC*).** Une fois libérée dans le cytoplasme, la Cbl est prise en charge par la protéine MMACHC (31.7 kDa), codée par le gène *MMACHC* (methylmalonic aciduria and homocystinuria type C), dont la perte de fonction a été associée au défaut cbIC [35]. Il a été suggéré que MMACHC pourrait être une protéine de transport de la Cbl entre les protéines lysosomales LMBD1 ou ABCD4 et les enzymes responsables de la synthèse des deux cofacteurs. Toutefois son rôle n'est pas restreint à celui d'une chaperonne étant donné que MMACHC est également capable de catalyser la décyanation de la CNCbl et la déalkylation de dérivés de Cbl par deux mécanismes différents [36].

**cbID (mutations du gène *MMADHC*).** Le défaut génétique cbID a été décrit initialement dans une fratrie et l'hétérogénéité de ce groupe de complémentation a été mise en évidence quelques décennies plus tard [37]. Ce défaut peut être à l'origine de trois phénotypes différents, la déficience en MeCbl, celle en AdoCbl ou bien la combinaison des deux. Le gène responsable du défaut cbID, appelé *MMADHC* (methylmalonic aciduria and homocystinuria type D), code la protéine MMADHC (32.8 kDa) qui présente une homologie avec des protéines bactériennes de transport de la Cbl. Il existe une corrélation forte entre la nature et l'emplacement des mutations du gène *MMADHC* et les trois phénotypes associés au défaut cbID [38]. Il est probable que la fonction d'adressage de la Cbl par MMADHC fasse intervenir une interaction avec une autre protéine capable de lier la Cbl. Le candidat le plus évident est MMACHC qui non seulement lie la Cbl mais peut également interagir avec MMADHC.

### Voie de synthèse de l'AdoCbl

Il existe au moins trois étapes dans la voie de synthèse mitochondriale de l'AdoCbl, caractérisées par les groupes de complémentation cblA, cblB et MUT.

**cbIB (mutations du gène *MMAB*).** Après son entrée dans la mitochondrie par un mécanisme encore inconnu, la cob(II)alamine inactive est réduite en cob(I)alamine par une réductase non-identifiée avant d'être adénylosylée par l'ATP:cob(I)alamine adénylosyltransférase (ATR, 37.4 kDa), une protéine codée par le gène *MMAB* (methylmalonic aciduria type B) dont la déficience est associée au groupe de complémentation cblB [39]. Ensuite, l'AdoCbl formée et liée à l'ATR est directement adressée à la méthylmalonyl-coA mutase (MCM) qui catalyse la conversion du méthylmalonyl-coA en succinyl-coA [40]. Ce processus requiert également la participation d'une troisième protéine, MMAA, dont l'activité est déficiente chez les patients cblA.

**cblA (mutations du gène *MMAA*).** Le défaut cblA est causé par des mutations dans le gène MMAA (methylmalonic aciduria type A), un orthologue du gène bactérien *meaB* [41], qui code pour la protéine MMAA (46.5 kDa) de la famille G3E des

protéines de liaison au GTP. MMAA possède une double fonction en protégeant MCM d'une oxydation inactivante et en la ré-activant par sa fonction GTPase [42].

**MUT** (mutations du gène *MUT*). Le groupe de complémentation mut est défini par des mutations dans le gène *MUT* qui code pour la méthylmalonyl-CoA mutase (MCM, 83.1 kDa), une protéine mitochondriale qui catalyse l'isomérisation du méthylmalonyl-coA en succinyl-coA [43].

### Voie de synthèse de la MeCbl

Les groupes de complémentation cblG et cblE conduisent à une HCy isolée et sont respectivement associés à un défaut d'activité de la méthionine synthase (MS) et de celle de la méthionine synthase réductase (MSR) [44]. Lors de la synthèse de MeCbl par la MS, le groupement méthyle est transféré du méthyltétrahydrofolate à la cob(I)alamine avant d'être transféré à l'homocystéine pour former la méthionine et le tétrahydrofolate. Ce cycle catalytique requiert l'activité de la MSR qui réactive le cofacteur oxydé cob(II)alamine en cob(I)alamine par une méthylation réductrice faisant intervenir la S-adenosylméthionine (SAM) (Fig. 4).

**CblG (mutations du gène *MTR*)**. Le gène *MTR* code pour la MS humaine (140 kDa) dont l'activité est régulée par des mécanismes complexes impliquant un épissage alternatif et des étapes post-transcriptionnelles. L'activité de la MS est stimulée par la supplémentation en Cbl [45]. Certains mécanismes de régulation font intervenir la transcription et l'épissage alternatif de *MTR*, avec un rôle majeur des interactions d'une isoforme tronquée de la MS dans la régulation de l'activité de MMACHC [46]. Parmi les cellules cblG, un certain nombre présente une activité MS indétectable et la classification en cblG variant a été utilisée [47].

**CblE**. Le défaut cblE est associé aux mutations du gène *MTRR* qui code pour la méthionine synthase réductase (MSR, 80.4 kDa) [48]. La MSR joue un rôle dans la stabilisation de la MS et dans la réduction de l'aquocobalamine. Le stress oxydatif pourrait majorer les conséquences liées au défaut cblE [49]. Des polymorphismes de *MTRR* ont été associés à une augmentation du risque de défauts de fermeture du tube neural [50].

## CONCLUSION

L'importance métabolique de la vitamine B12 peut en partie expliquer la complexité remarquable des processus nécessaires au transport et au métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 chez les mammifères et en particulier chez l'homme. Cette complexité se traduit aussi par l'existence de nombreuses maladies métaboliques dont le diagnostic repose sur le profil métabolique, le phénotypage des fibroblastes et le génotypage. La connaissance des mécanismes de régulation et d'adressage des protéines intracellulaires reste encore très parcellaire.

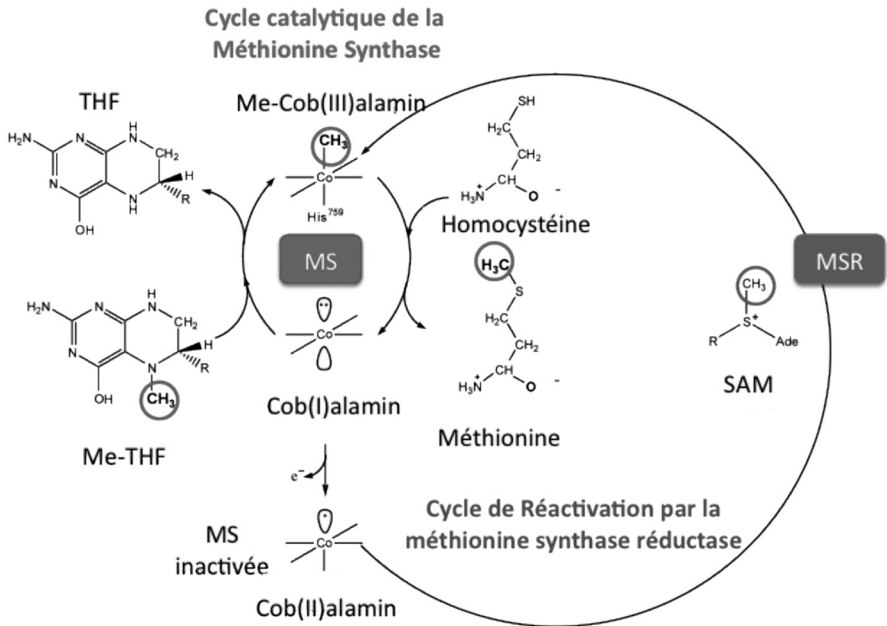


FIG. 4. — Cycles catalytiques de la méthionine synthase (MS) et de la méthionine synthase réductase (MSR). Lors de la synthèse de MeCbl par la MS, le groupement méthyle (Me) est transféré du méthyltétrahydrofolate (Me-THF) à la cob(I)alamin avant d'être transféré à l'homocystéine pour former la méthionine et le tétrahydrofolate (THF). Ce cycle catalytique requiert l'activité de la MSR qui ré-active le cofacteur oxydé cob(II)alamin en cob(I)alamin par une méthylation réductrice faisant intervenir la S-adenosylméthionine (SAM).

#### Liste des abréviations :

- Acide méthylmalonique, MMA
- Amnionless (gène), *AMN*
- Cobalamin, Cbl
- Cubiline, CUB
- Cubiline (gène), *CUBN*
- Cyanocobalamine, CNCbl
- 5'-déoxyadénosyl-cobalamine, AdoCbl
- Desoxythymidine monophosphate, dTM
- Facteur intrinsèque, FI
- Facteur intrinsèque (gène), *GIF*
- Fucosyltransférase 2, FUT2
- Haptocorrine, HC
- Homocystéine, HCy
- Hydroxocobalamine, OHCbl
- Maladie d'Imerslund-Gräsbeck, IGS

Méthionine synthase, MS  
Méthionine synthase (gène), *MTR*  
Méthionine synthase réductase, MSR  
Méthionine synthase réductase (gène), *MTRR*  
Méthylcobalamine, MeCbl  
Récepteur de la transcobalamine, TCblR  
S-adénosylméthionine, SAM  
Transcobalamine, TC  
Uridine monophosphate, UM  
Vitamine B12, B12

**Remerciements :** Les études réalisées par l'Inserm U954 et rapportées dans cet article ont été financées par l'Inserm, le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, la Région Lorraine et l'Agence nationale française pour la recherche (ANR).

## RÉFÉRENCES

- [1] Watanabe F. Vitamin B12 sources and bioavailability. *Exp Biol Med.* 2007; 232:1266-74.
- [2] Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr.* 2004;24:299-326
- [3] Aimone-Gastin I, Pierson H, Jeandel C, Bronowicki JP, Plénat F, Lambert D, et al. Prospective evaluation of protein bound vitamin B12 (cobalamin) malabsorption in the elderly using trout flesh labelled *in vivo* with 57Co-cobalamin. *Gut.* 1997; 41:475-9.
- [4] Hewitt JE, Gordon MM, Taggart RT, Mohandas TK, Alpers DH. Human gastric intrinsic factor: characterization of cDNA and genomic clones and localization to human chromosome 11. *Genomics.* 1991;10:432-40.
- [5] Guéant JL, Kouvonen I, Michalski JC, Masson C, Gräsbeck R, Nicolas JP. Purification of human intrinsic factor using high-performance ion-exchange chromatography as the final step. *FEBS Lett.* 1985;184:14-19.
- [6] Guéant JL, Djalali M, Aouadj R, Gaucher P, Monin B, Nicolas JP. In vitro and *in vivo* evidence that the malabsorption of cobalamin is related to its binding on haptocorrin (R binder) in chronic pancreatitis. *Am J Clin Nutr.* 1986;44:265-77.
- [7] Guéant JL, Champigneulle B, Djalali M, Bigard MA, Gaucher P, Hassouni A, et al. An *in vitro* test of de gradation of haptocorrin (TDH) for biological diagnosis of exocrine pancreatic dysfunction using duodenal juice collected during endoscopy. *Lancet.* 1986;ii:709-12.
- [8] El Kholty S, Gueant JL, Bressler L, Djalali M, Boissel P, Gerard P et al. Portal and biliary phases of enterohepatic circulation of corrinoids in humans. *Gastroenterology.* 1999;101:1399-408.
- [9] Adams IF, Ross SK, Mervyn L, Boddy K, King P. Absorption of cyano-cobalamin, coenzyme B12, methylcobalamin, and hydroxo-cobalamin at different dose levels. *Scand J Gastroenterol.* 1971;6:249-52.
- [10] Schohn H, Guéant JL, Leheup B, Saunier M, Grignon G, Nicolas JP. Intrinsic factor receptor during fetal development of the human intestine. *Biochem J.* 1992; 286:153-6.

- [11] Guéant JL, Masson C, Schohn H, Girr M, Saunier M, Nicolas JP. Receptor-mediated endocytosis of the intrinsic factor-cobalamin complex in HT 29, a human colon carcinoma cell line. *FEBS Lett.* 1992;297:229-32.
- [12] Kozyraki R, Gofflot F. Multiligand endocytosis and congenital defects: roles of cubilin, megalin and amnionless. *Curr Pharm Des.* 2007;13:3038-46.
- [13] Guéant JL, Jokinen O, Schohn H, Monin B, Nicolas JP, Gräsbeck R. Purification of intrinsic factor receptor from pig ileonusing as affinity medium human intrinsic factor covalently bound to Sepharose. *Biochim Biophys Acta.* 1989;992:281-8.
- [14] Guéant JL, Chéry C, Namour F. Cubilin and the hydrophobic intrinsic factor receptor are distinct molecules. *Blood.* 2001;97:3316-7.
- [15] Guéant JL, Gérard A, Monin B, Champigneulle B, Gérard H, Nicolas JP. Radioautographic localisation of iodinated human intrinsic factor in the guinea pig ileonusing electron microscopy. *Gut.* 1988;29:1370-8.
- [16] Pons L, Guy M, Lambert D, Hatier R, Guéant J. Transcytosis and coenzymatic conversion of [(57)Co]cobalamin bound to either endogenous transcobalamin II or exogenous intrinsic factor in caco-2 cells. *Cell Physiol Biochem.* 2000;10:135-48.
- [17] Yassin F, Rothenberg SP, Rao S, Gordon MM, Alpers DH, Quadros EV. Identification of a 4-base deletion in the gene in inherited intrinsic factor deficiency. *Blood.* 2004;103:1515-7.
- [18] Tanner SM, Li Z, Perko JD, Oner C, Cetin M, Altay C, et al. Hereditary juvenile cobalamin deficiency caused by mutations in the intrinsic factor gene. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:4130-3.
- [19] Chery C, Hehn A, Mrabet N, Oussalah A, Jeannesson E, Besseau C, et al. Gastric intrinsic factor deficiency with combined GIF heterozygous mutations and FUT2 secretor variant. *Biochimie.* 2013;95:995-1001.
- [20] Guéant JL, Safi A, Aimone-Gastin I, Rabesona H, Bronowicki JP, Plénat F, et al. Autoantibodies in pernicious anemia type I patients recognize sequence 251-256 in human intrinsic factor. *Proc Assoc Am Phys.* 1997;109:462-9.
- [21] Gräsbeck R. Imerslund-Gräsbeck syndrome (selective vitamin B12 malabsorption with proteinuria). *Orphanet J Rare Dis.* 2006;19:1-17.
- [22] Guéant JL, Saunier M, Gastin I, Safi A, Lamireau T, Duclos B, et al. Decreased activity of intestinal and urinary intrinsic factor receptor in Gräsbeck-Imerslund disease. *Gastroenterology.* 1995;108:1622-28.
- [23] Eaton DM, Livingston JH, Seetharam B, Puntis JW. Overexpression of an unstable intrinsic factor-cobalamin receptor in Imerslund-Gräsbeck syndrome. *Gastroenterology.* 1998;115:173-6.
- [24] Guéant JL, Chery C, Namour F, Aimone-Gastin I, Wustinger M. Decreased affinity of urinary intrinsic factor-cobalamin receptor in a case of Gräsbeck-Imerslund syndrome. *Gastroenterology.* 1999;116:1274-76.
- [25] Namour F, Dobrovoljski G, Chery C, Audonnet S, Feillet F, Sperl W, et al. Luminal expression of cubilin is impaired in Imerslund-Gräsbeck syndrome with compound AMN mutations in intron 3 and exon 7. *Haematologica.* 2011;96:1715-9.
- [26] Quadros EV. Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. *Br J Haematol.* 2010;148:195-204.
- [27] Namour F, Olivier J, Abdelmouttaleb I, Adjalla C, Debard R, Salvat C, et al. Transcobalamin codon 259 polymorphism in HT-29 and Caco-2 cells and in Caucasians: relation to transcobalamin and homocysteine concentration in blood. *Blood.* 2001;97:1092-8.
- [28] Quadros EV, Nakayama Y, Sequeira JM. The protein and the gene encoding the receptor for the cellular uptake of transcobalamin-bound cobalamin. *Blood.* 2009; 113:186-92.

- [29] Alpers DH, Russell-Jones GJ. Chemistry and Biochemistry of B12. In: R Banerjee, ed. Intrinsic factor, haptocorrin and their receptors. New York: John Wiley & Sons, Inc. 1999;411-40.
- [30] Cooper BA, Rosenblatt DS. Inherited defects of vitamin B12 metabolism. *Annual Review of Nutrition*. 1987;7:291-320.
- [31] Namour F, Helfer AC, Quadros EV, Alberto JM, Bibi HM, Orning L, et al. Transcobalamin deficiency due to activation of an intra exonic cryptic splice site. *Br J Haematol*. 2003;123:915-20.
- [32] Quadros EV1, Lai SC, Nakayama Y, Sequeira JM, Hannibal L, Wang S, et al. Positive newborn screen for methylmalonic aciduria identifies the first mutation in TCbIR/CD320, the gene for cellular uptake of transcobalamin-bound vitamin B(12). *Hum Mutat*. 2010;31:924-9.
- [33] Rutsch F, Gailus S, Miousse IR, Suormala T, Sagne C, Toliat MR, et al. (2009) Identification of a putative lysosomal cobalamin exporter altered in the CblF defect of vitamin B12 metabolism. *Nat Genet*. 2009;41:234-9. Coelho D, Kim JC, Miousse IR, Fung S, du Moulin M, Buers I, et al. Mutations in ABCD4 cause a new inborn error of vitamin B12 metabolism. *Nat Genet*. 2012; 44:1152-5.
- [34] Lerner-Ellis JP, Tirone JC, Pawelek PD, Doré C, Atkinson JL, Watkins D, et al. Identification of the gene responsible for methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type. *Nat Genet*. 2006;38:93-100.
- [35] Kim J, Gherasim C, Banerjee R. Decyanation of vitamin B12 by a trafficking chaperone. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:14551-4.
- [36] Suormala T, Baumgartner MR, Coelho D, Zavadakova P, Kozich V, Koch HG, et al. The cblD defect causes either isolated or combined deficiency of methylcobalamin and adenosylcobalamin synthesis. *J Biol Chem*. 2004;279:42742-9.
- [37] Stucki M, Coelho D, Suormala T, Burda P, Fowler B, Baumgartner MR. Molecular mechanisms leading to three different phenotypes in the cblD defect of intracellular cobalamin metabolism. *Hum Mol Genet*. 2012;21:1410-8.
- [38] Dobson CM, Wai T, Leclerc D, Kadir H, Narang M, Lerner-Ellis JP, et al. Identification of the gene responsible for the cblB complementation group of vitamin B12-dependent methylmalonic aciduria. *Hum Mol Genet*. 2002;26:3361-69.
- [39] Padovani D, Labunska T, Palfey BA, Ballou DP, Banerjee R. Adenosyltransferase tailors and delivers coenzyme B12. *Nature Chem Biol*. 2008;4:194-6.
- [40] Dobson CM, Wai T, Leclerc D, Wilson A, Wu X, Doré C, et al. Identification of the gene responsible for the cblA complementation group of vitamin B12-responsive methylmalonic acidemia based on analysis of prokaryotic gene arrangements. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002b;99:15554-9.
- [41] Takahashi-Iniguez T, Garcia-Arellano H, Trujillo-Roldan MA, Flores ME. Protection and reactivation of human methylmalonyl-CoA mutase by MMAA protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;404:443-7.
- [42] Ledley FD, Lumetta M, Nguyen PN, Kolhouse JF, Allen RH. Molecular cloning of Lmethylmalonyl-CoA mutase: gene transfer and analysis of mut cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;85:3518-21.
- [43] Leclerc D, Wilson A, Dumas R, Gafuik C, Song D, Watkins D, et al. Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:3059-64.
- [44] Oltean S, Banerjee R. A B12-responsive internal ribosome entry site (IRES) element in human methionine synthase. *J Biol Chem*. 2005;280:32662-68.

- [45] Fofou-Caillierez MB, Mrabet NT, Chéry C, Dreumont N, Flayac J, Pupavac M, et *al.* Interaction between methionine synthase isoforms and MMACHC: characterization in cblG-variant, cblG and cblC inherited causes of megaloblastic anaemia. *Hum Mol Genet.* 2013; 22:4591-601.
- [46] Wilson A, Leclerc D, Saberi F, Campeau E, Hwang HY, Shane B, et *al.* Functionally null mutations in patients with the cblG-variant form of methionine synthase deficiency. *Am J Hum Genet.* 1998;63:409-14.
- [47] Yamada K, Gravel RA, Toraya T, Matthews RG. Human methionine synthase reductase is a molecular chaperone for human methionine synthase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103:9476-81.
- [48] Richard E, Desviat LR, Ugarte M, Pérez B. Oxidative stress and apoptosis in homocystinuria patients with genetic remethylation defects. *J Cell Biochem.* 2013;114:183-91.
- [49] Guéant-Rodriguez RM, Rendeli C, Namour B, Venuti L, Romano A, Anello G, et *al.* Transcobalamin and methionine synthase reductase mutated polymorphisms aggravate the risk of neural tube defects in humans. *Neurosci Lett.* 2003;344:189-92.