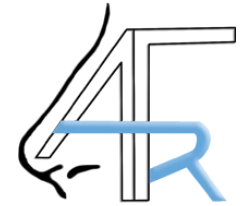




27^{ème} Congrès de la Société



de Kinésithérapie en Réanimation

17 janvier 2014

Paris

Dyskinésie ciliaire primitive :
physiopathologie et outils diagnostiques

Jean-François Papon

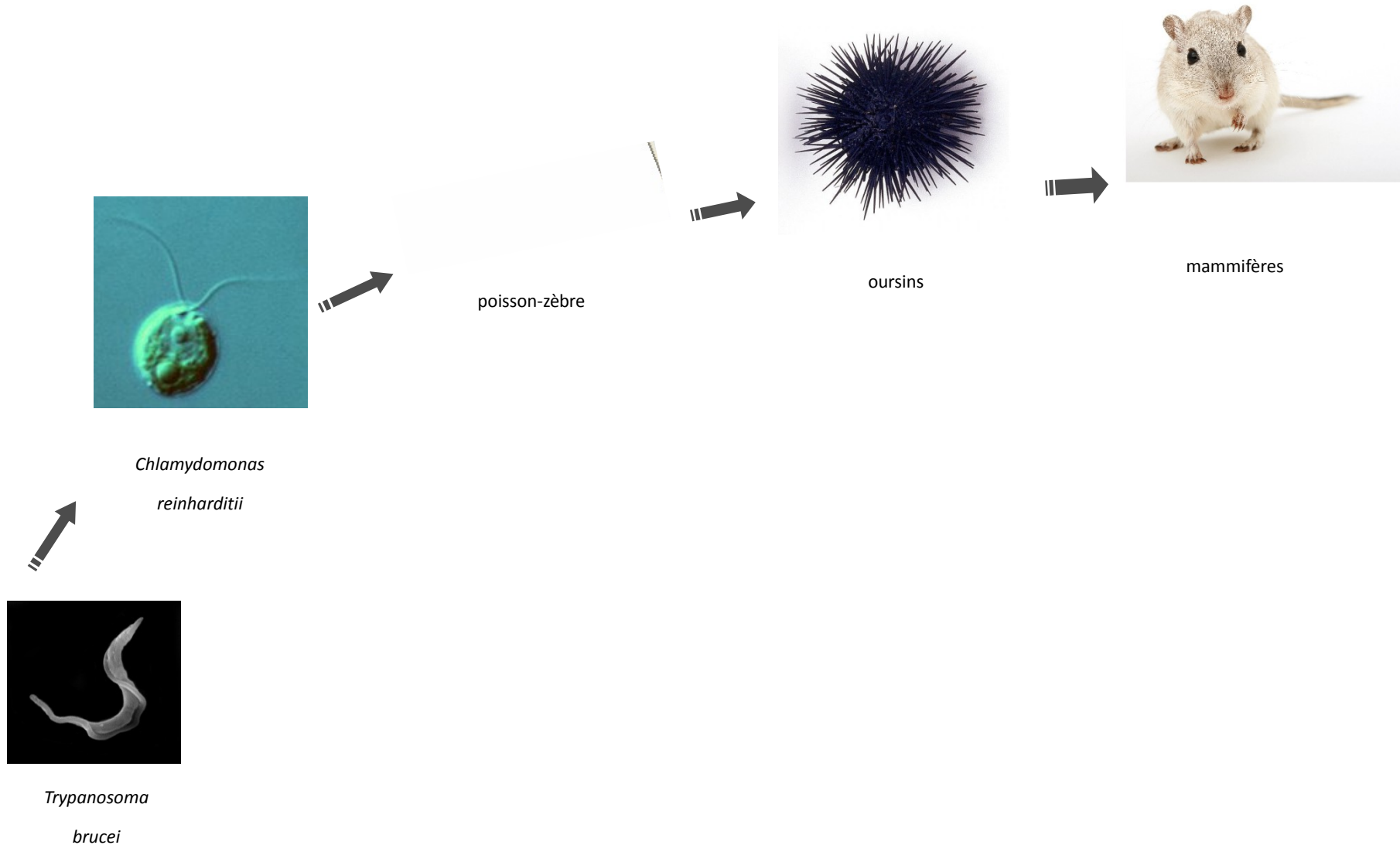
Service d'ORL et de Chirurgie Cervico-Faciale, CHU Kremlin-Bicêtre

INSERM U955, IMRB Créteil

Conflits d'intérêt

- **Intérêts financiers** : néant
- **Liens durables ou permanents** : néant
- **Interventions ponctuelles** : néant
- **Intérêts indirects** : néant

Les structures ciliées sont très conservées au cours de l'évolution

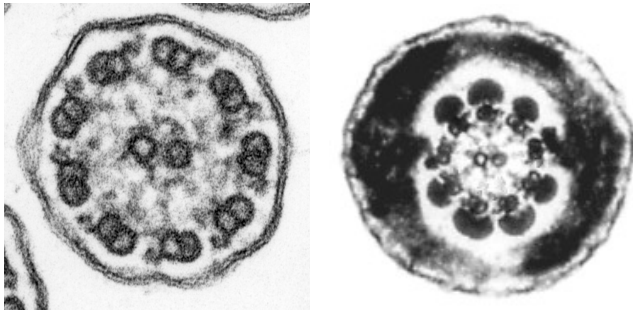


Deux types de cils

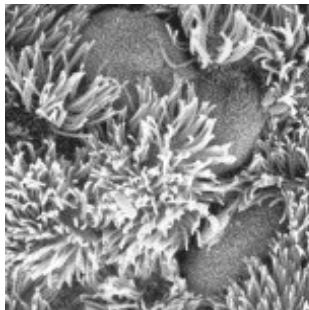


Deux types de cils

Cils mobiles & flagelles



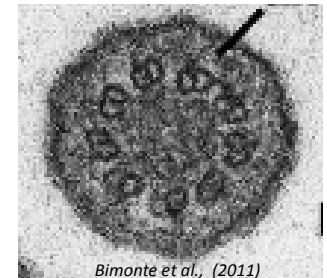
« 9+2 »



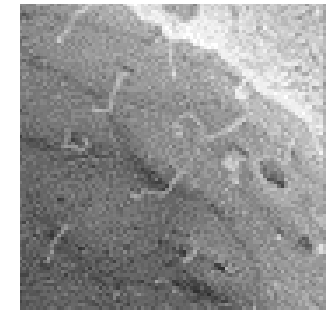
transport



Cils primaires



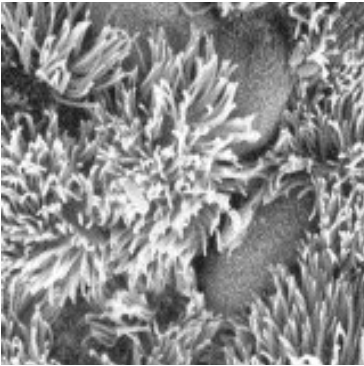
« 9+0 »



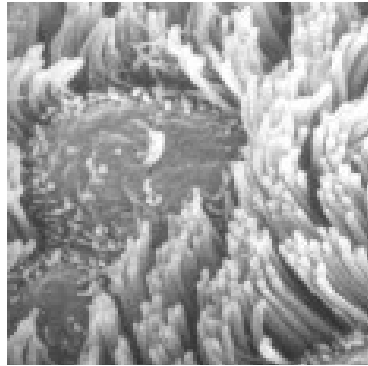
«antenne»

Cils et pathologies

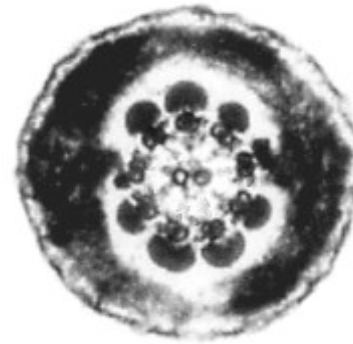
respiratoire



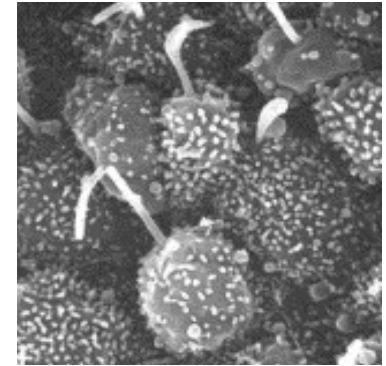
trompe



spermatozoïde



cellules nodales

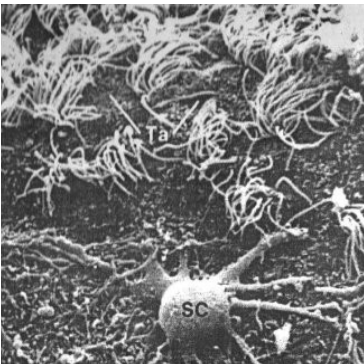


infections

infertilité

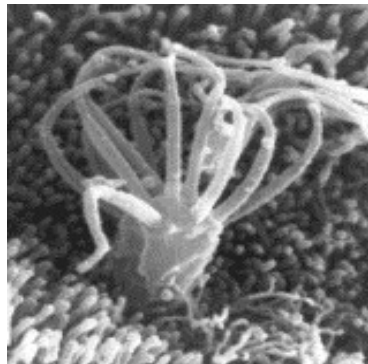
situs inversus

hydrocéphalie

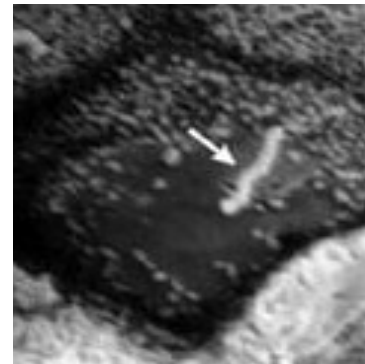


anosmie

rétinite



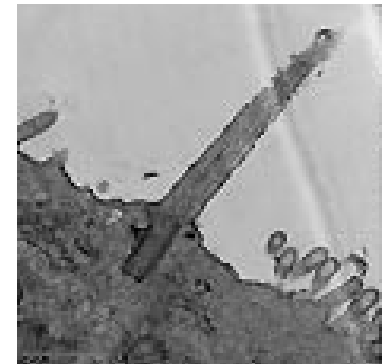
kystes



polydactylie?

obésité?

retard?



épendyme

cils sensoriels

rein

autres

Principales ciliopathies



Syndrrome de Kartagener

Dyskinésies ciliaires primitives

Polykystose rénale

Nephronophthisis

Syndrrome de Bardet-Biedl

Syndrrome de Meckel

Syndrrome de Joubert

Syndrrome de Senior-Loken

Syndrrome oro facio digital

infections respiratoires

situs inversus/isomérisme

stérilité

rétinite pigmentaire

surdité

kystes reins, foie, pancreas

polydactylie

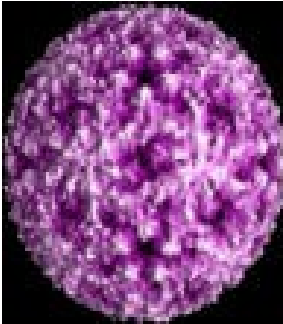
retard mental

agénésie du corps calleux

obésité

Fonction des **cils respiratoires** : épuration muco-ciliaire

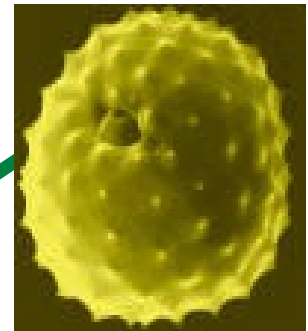
Microorganismes



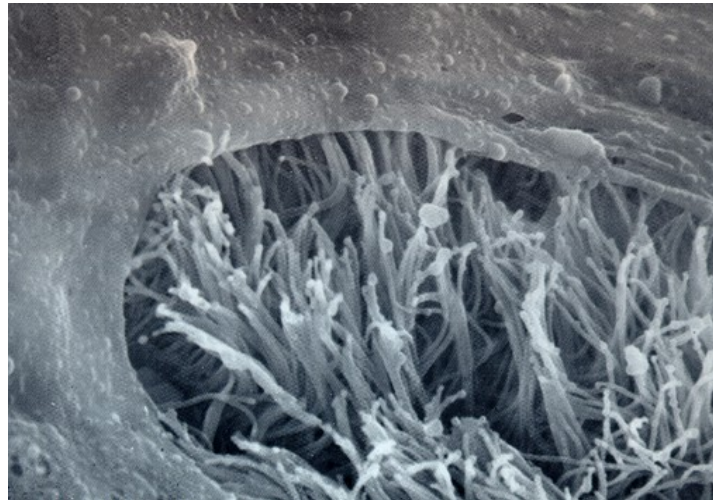
Polluants



Allergènes



Système de
défense



Muqueuse respiratoire nasale

- **Lamina propria**

- Tissu conjonctif
- Gl. séromuqueuses
- C. immunocompetentes
- SN (autonome et sensitif)
- Réseau vasculaire

- **Epithelium**

- Pseudostratifié cilié
- Présence de PNN

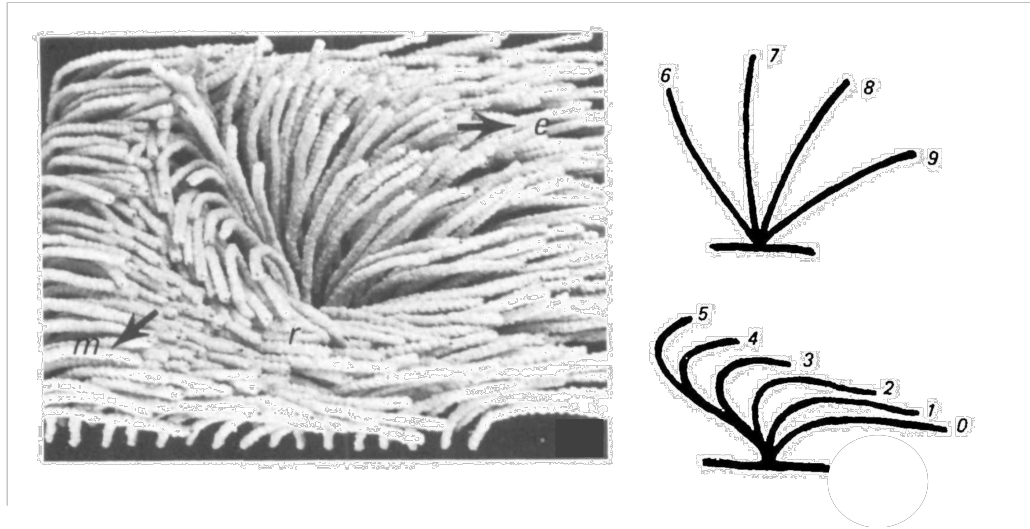


C. Ciliées



- Les plus différenciées
- Les plus sensibles

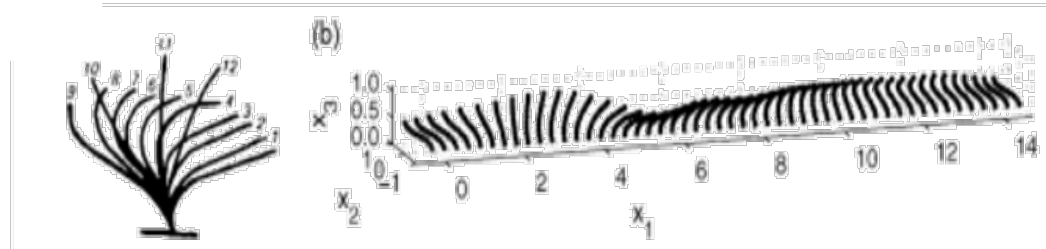
Battement ciliaire : définition



Mouvement permanent et périodique en 3D

Asymétrique

Onde métachrone



Support du battement : axonème



Cil respiratoire

Structure « 9+2 »

Bras de dynéine externes

BDE

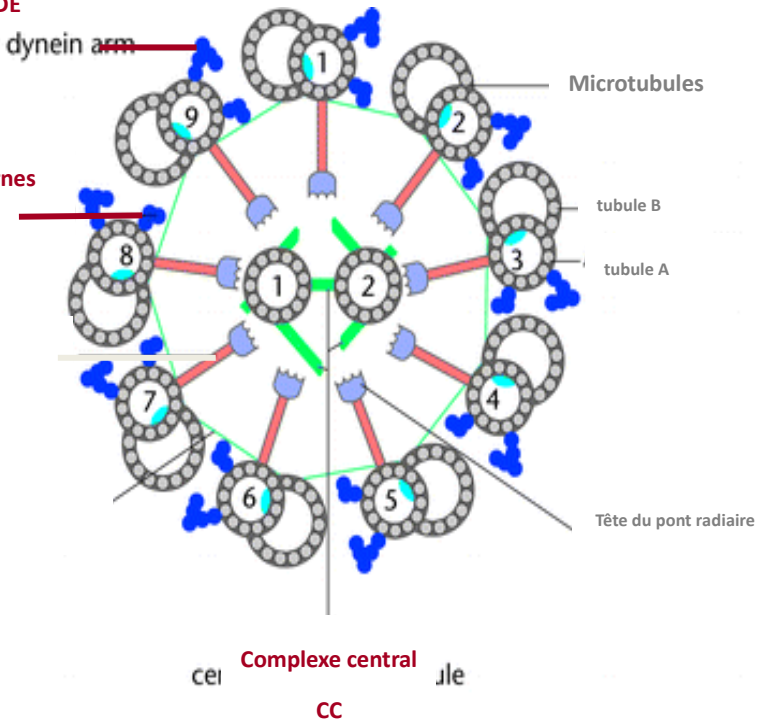
Outer dynein arm

Bras de dynéine internes

BDI

Ponts radiaires

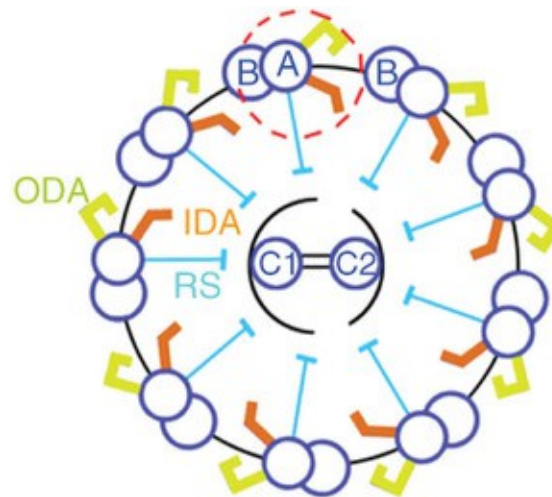
Liens de nexine



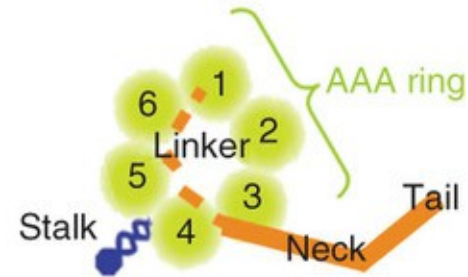
Ainsworth et al. 2007

Linck et al. 2001

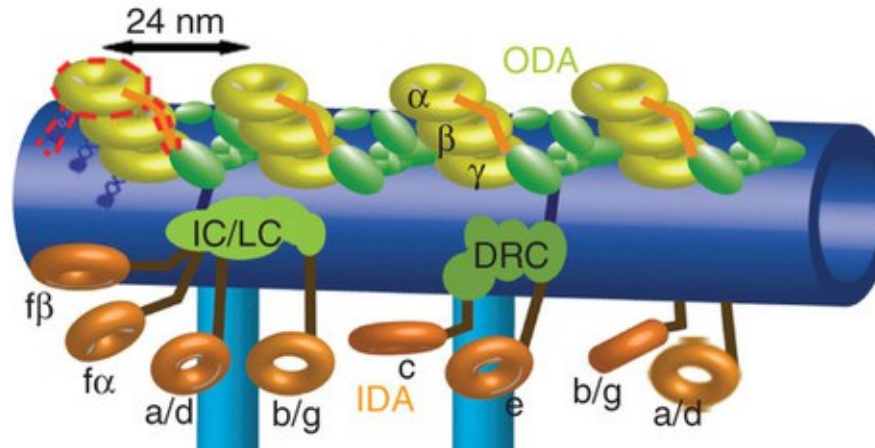
Bras de dynéines



Chaîne lourde α de BDE



Microtubule A



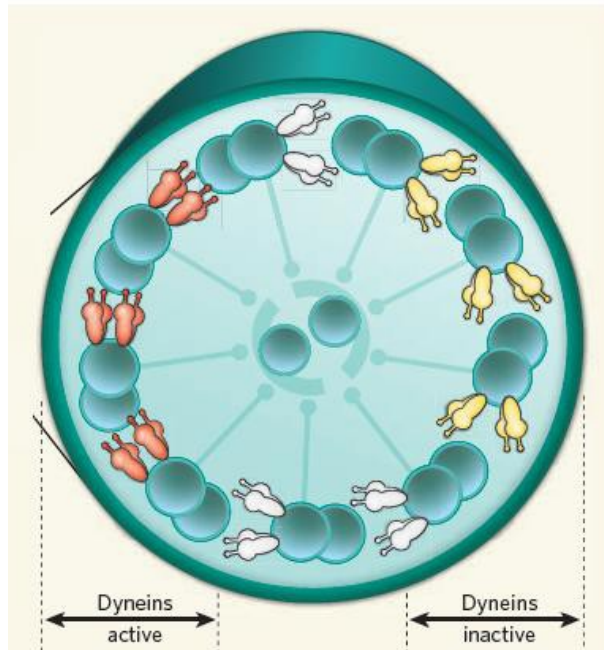
1 seul type de BDE

7 isoformes de BDI

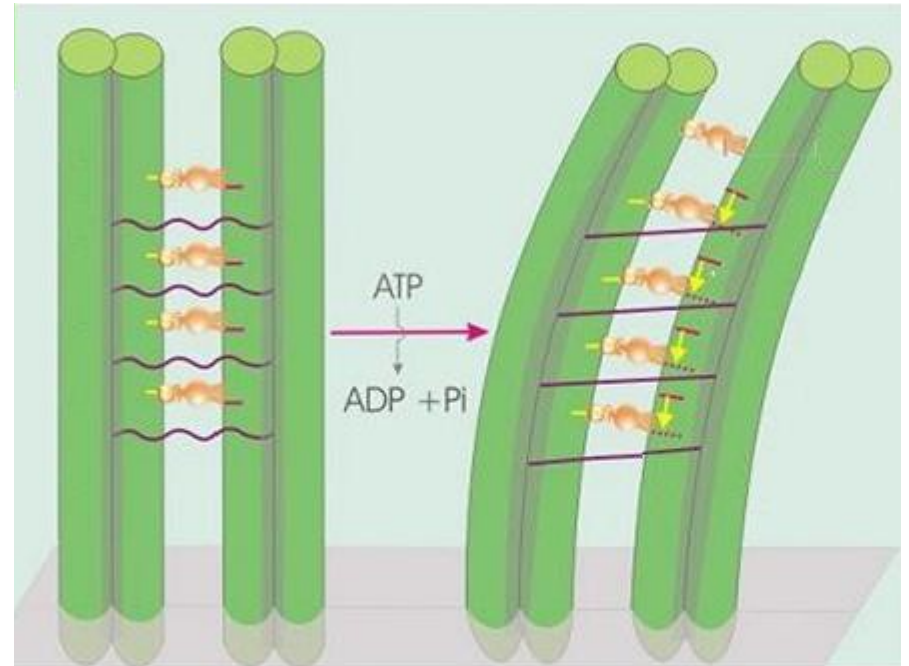
Ponts radiaires

Battement ciliaire: mécanismes

Activation des dyneïnes



Inclinaison des microtubules



Battement

plan (CC)

fréquence (BDE)

forme (BDI, CC)

Mitchinson et al. 2010

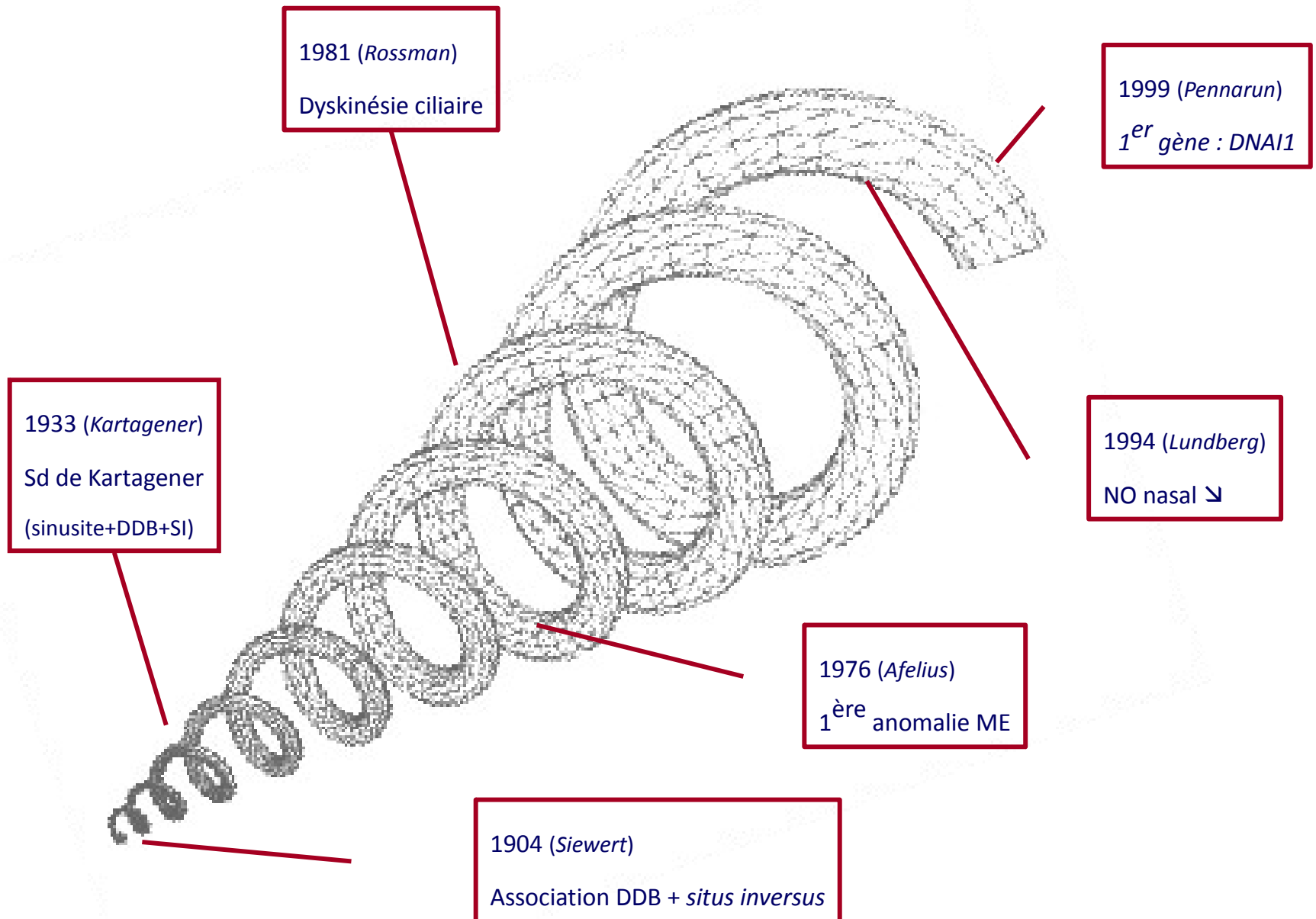
Salathe et al. 2007

Chilvers et al. 2003

Brokaw et al. 1987-1994

Nonaka et al. 1998

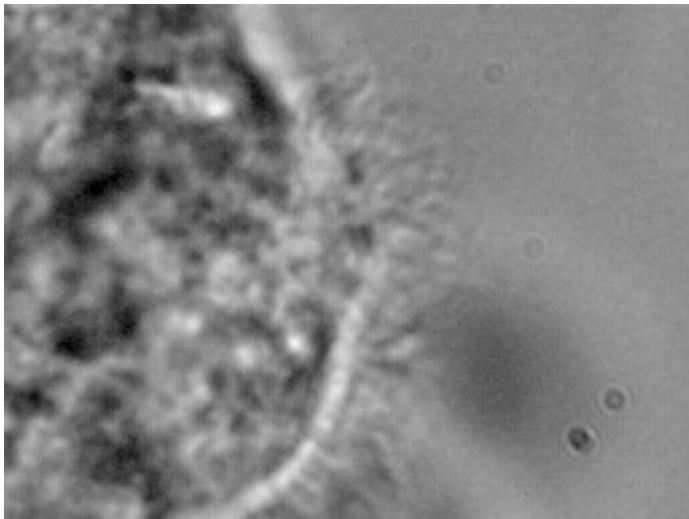
Historique de la dyskinésie ciliaire primitive



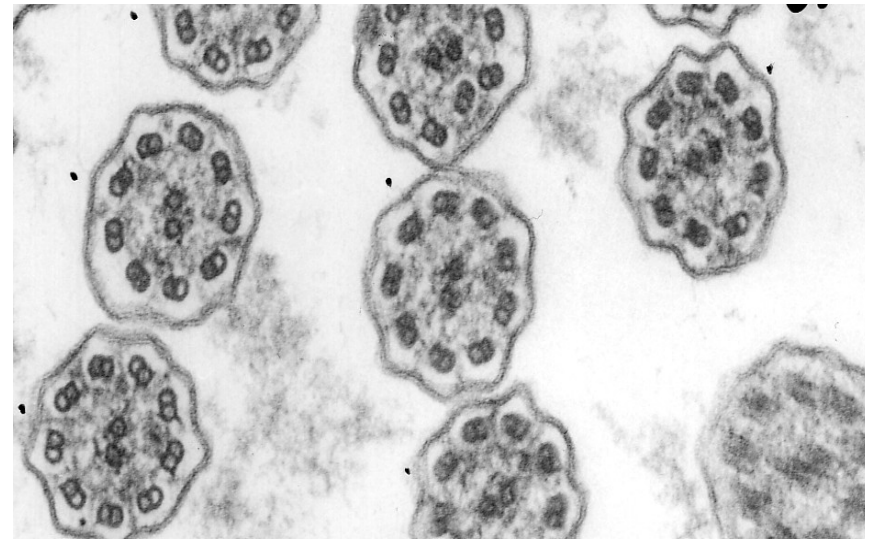
Dyskinésies ciliaires primitives (DCP)

- Première ciliopathie identifiée (*Afzelius*, 1976)
- Transmission autosomique récessive (1/16000)

Défaut d'épuration mucociliaire



anomalie du battement ciliaire

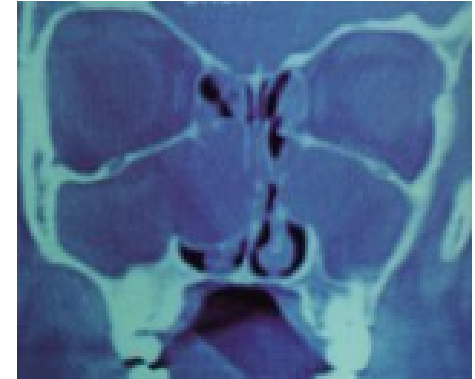
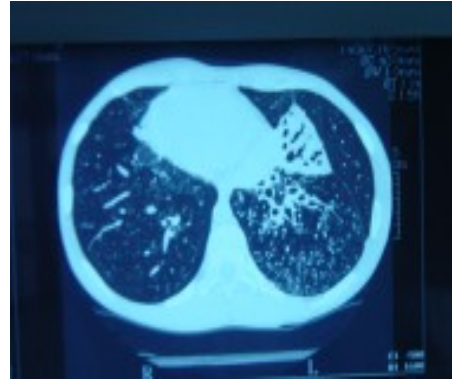


défaut de l'ultrastructure axonémale

Signes cliniques évocateurs de DCP

- ✓ Début précoce
- ✓ Détresse respiratoire néonatale
- ✓ Consanguinité parentale
- ✓ Formes familiales (fratrie)
- ✓ Malposition viscérale
- ✓ Hypofertilité

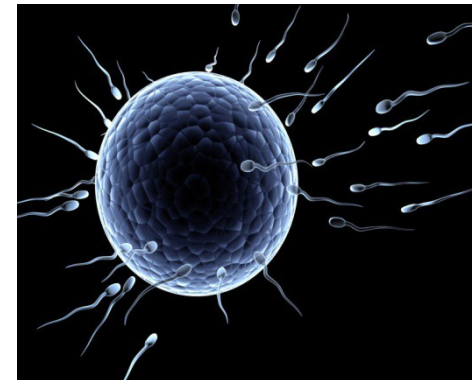
syndrome sinopulmonaire



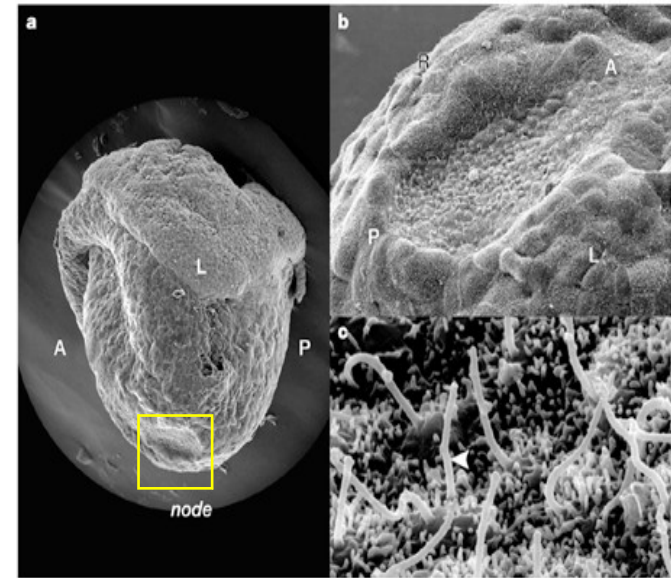
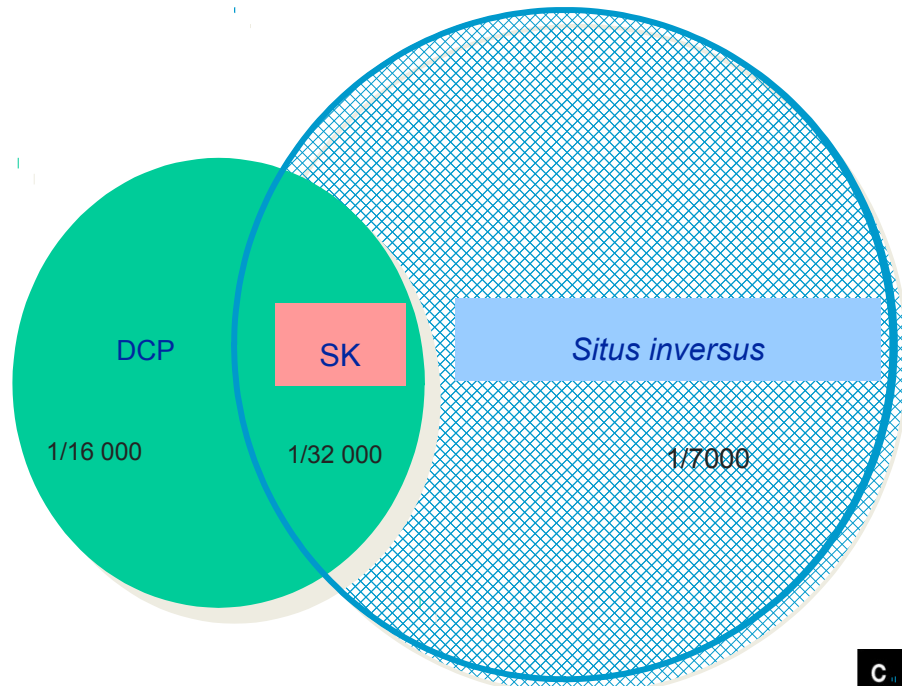
situs inversus (50%)



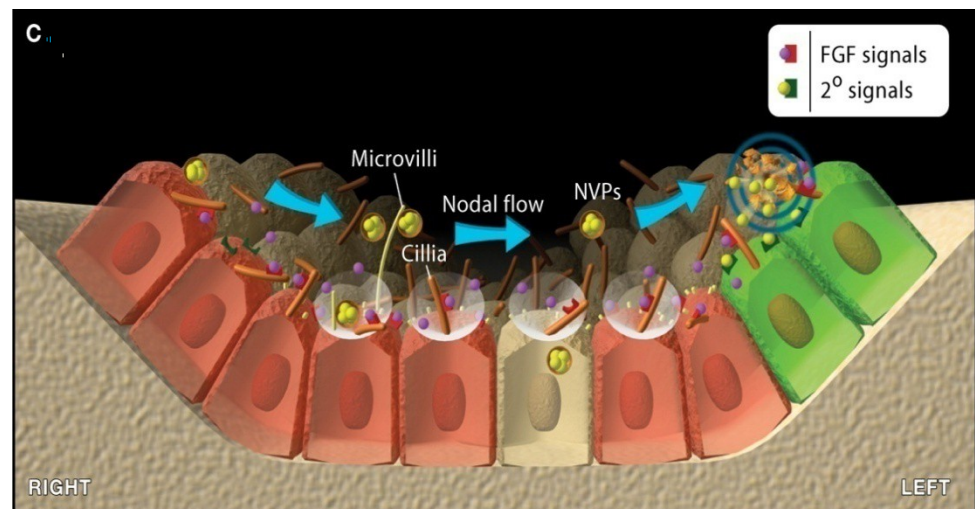
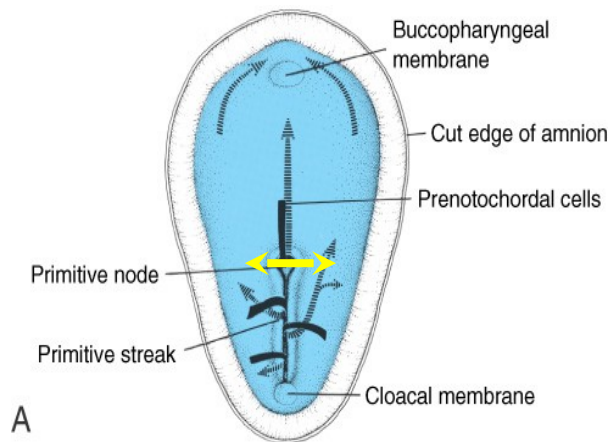
infertilité



Situs Inversus et DCP



Nature Reviews | Genetics

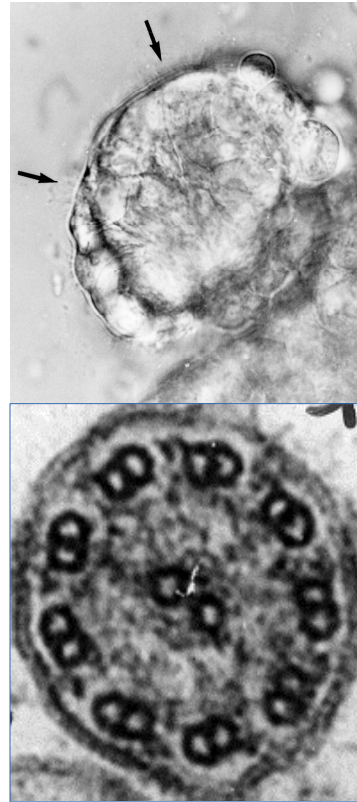


Diagnostic paraclinique des DCP

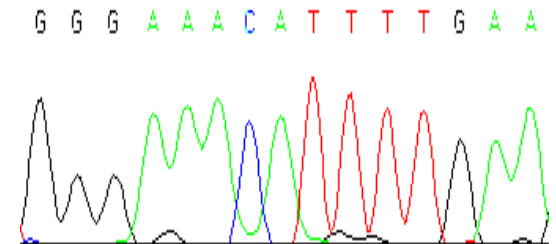
Débit nasal
monoxyde d'azote (NO)



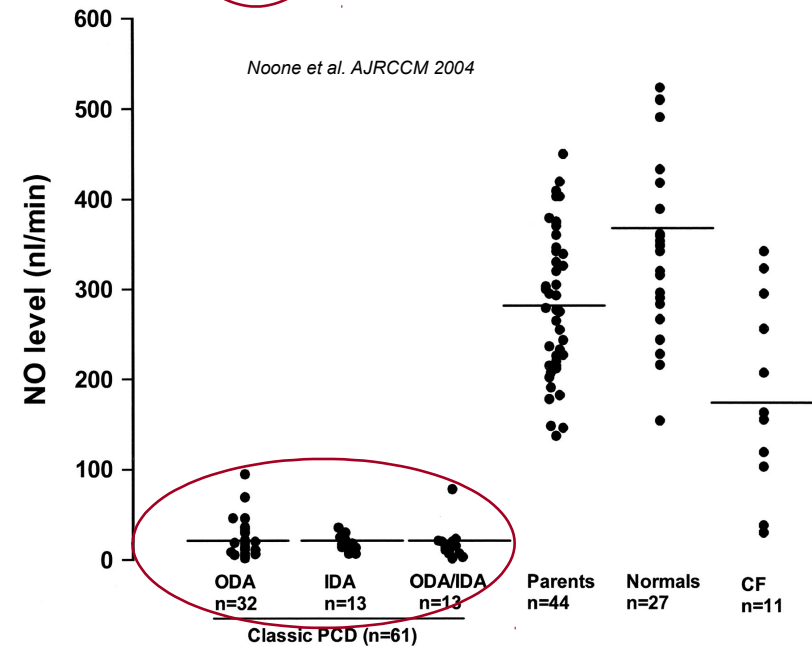
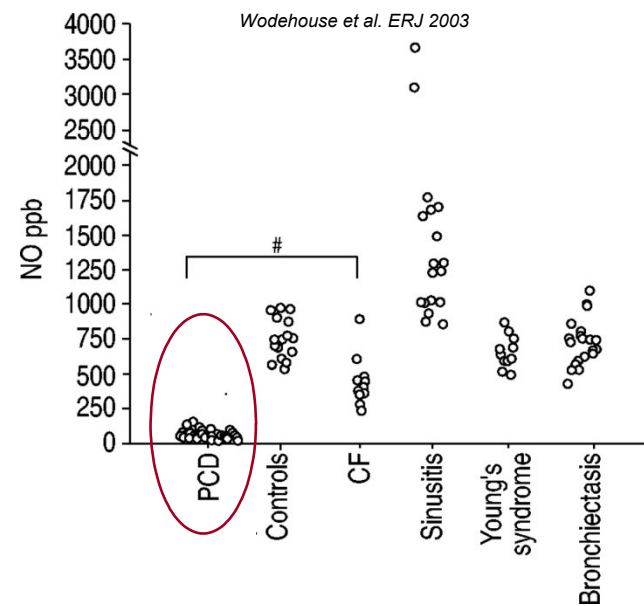
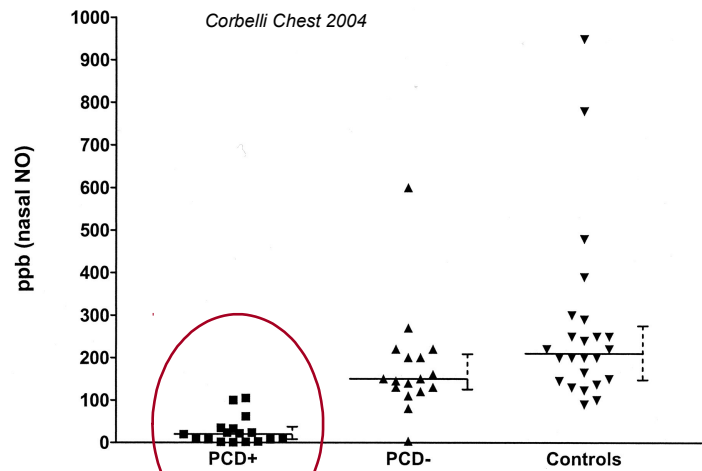
Investigations ciliaires



Analyses
génétiques



Le débit nasal du NO est « effondré » dans la DCP



- valeur du débit de NO nasal
- > 100 nl/mn DCP exclue ?
- difficile chez enfant < 6 ans

Prélèvements ciliaires

- ✓ muqueuse des voies aériennes
- ✓ recueil par brossage, curetage, biopsie
- ✓ dans milieu de culture ou fixateur

trachéo-bronchique

fibroscopie

éviter la carène

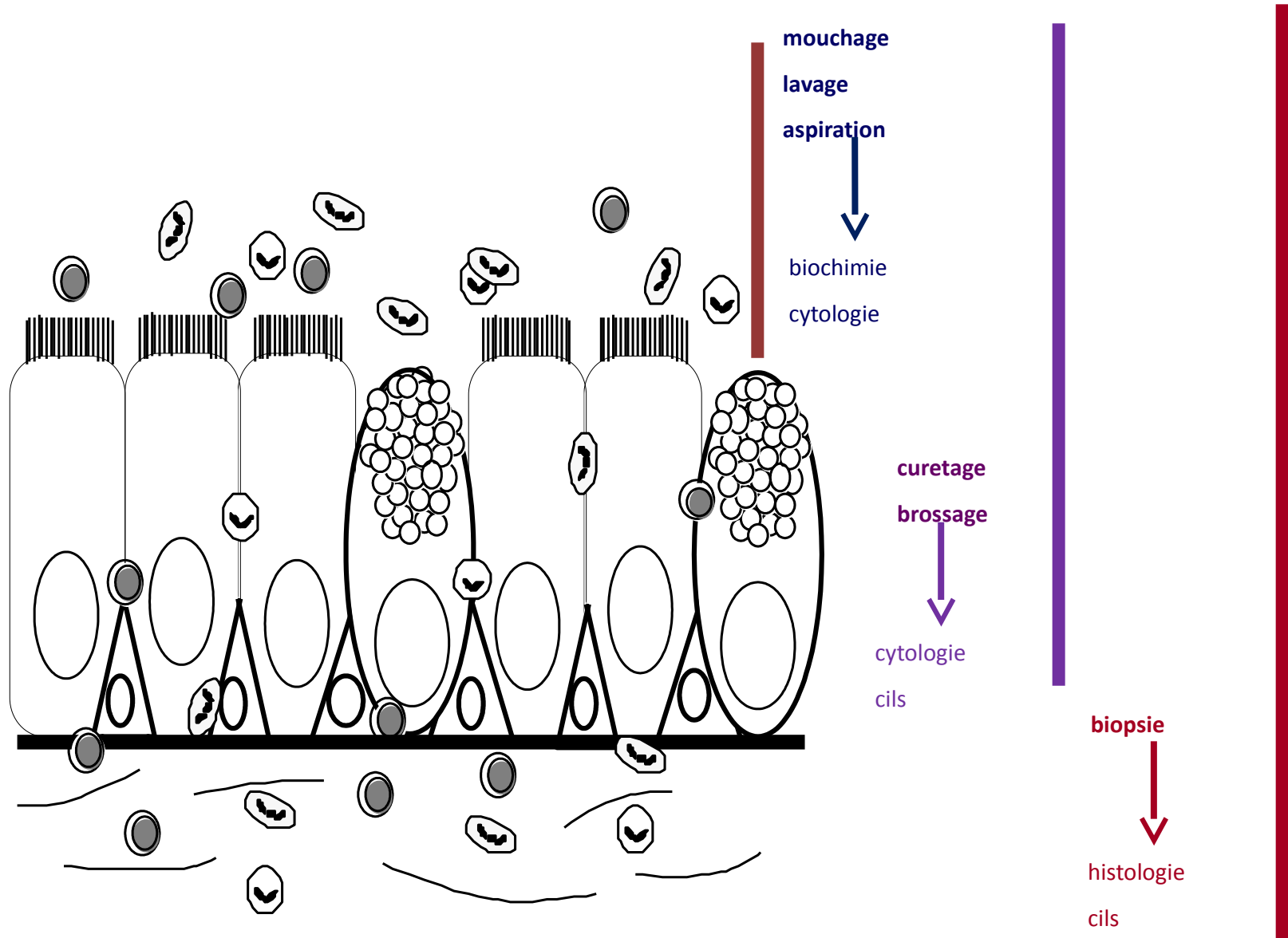
nasal

endoscopie, microscope

région postérieure

cornet inférieur

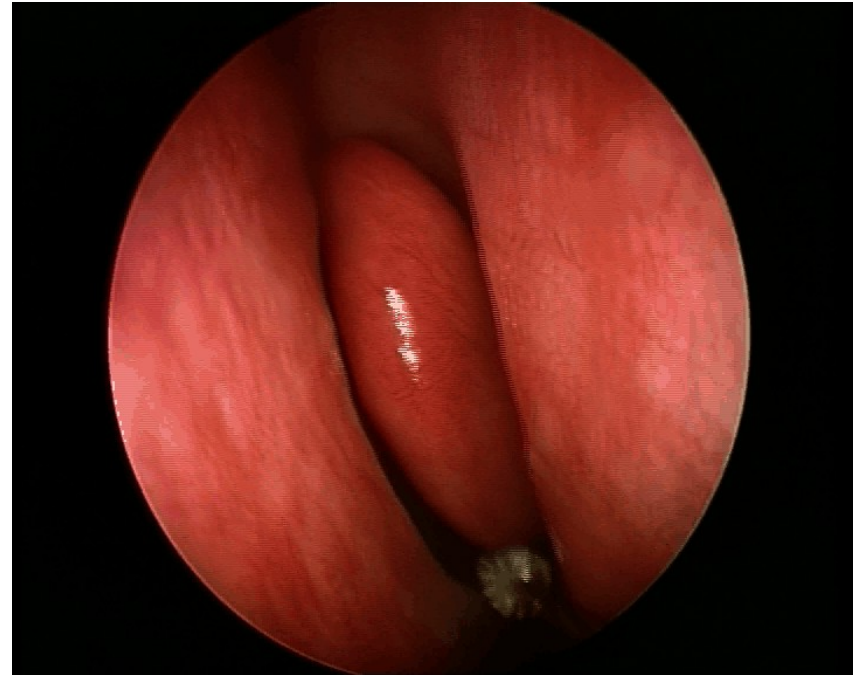
Trois types de prélèvements cytologiques



Réalisation du prélèvement cytologique

Brossage nasal: facile et peu invasif

- Brosse (ou écouvillon)
- Anesthésie locale: xylocaïne (+/- naphazoline)
- 1/3 moyen du cornet inférieur
- Rhinoscopie/endoscopie

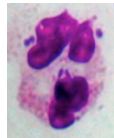


Analyse cytologique

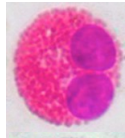
Analyse en microscopie optique

- Fixation sur lame
- Coloration MGG (parfois Papanicolaou)
- Richesse cellulaire:
 - *C. épithéliales*
 - *C. inflammatoires*
- Formule cytologique (200 cellules):

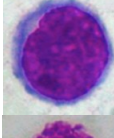
○ *Neutrophiles*



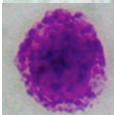
○ *Eosinophiles*



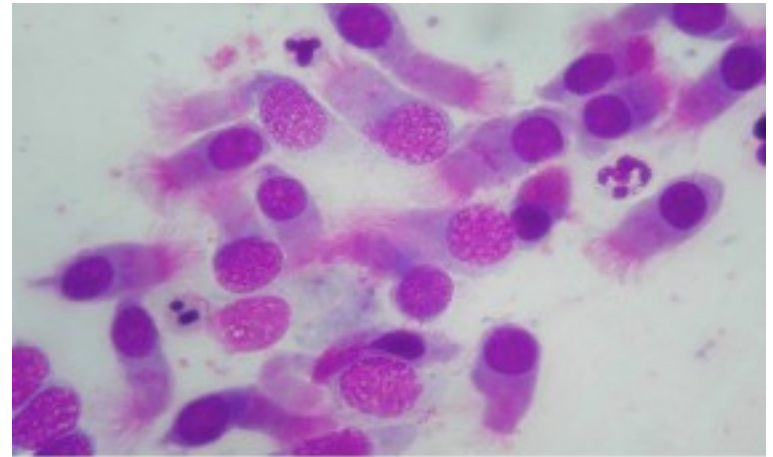
○ *Lymphocytes*



○ *Mastocytes*



Sujet sain



Coloration MGG, grossissement x1000

Analyse du battement ciliaire

Photomultiplicateur: fréquence de battement ciliaire (FBC)

→ mais certaines anomalies ont une FBC non altérée

Vidéomicroscopie numérique à haute vitesse

→ permet une analyse qualitative du battement

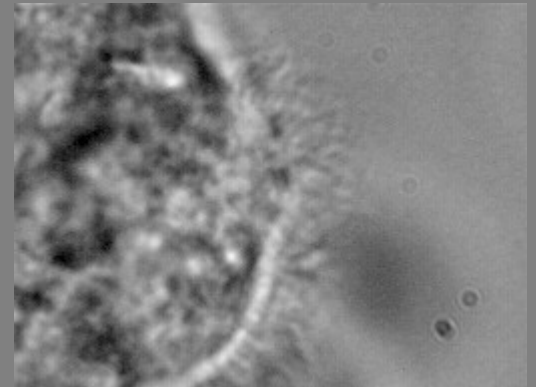
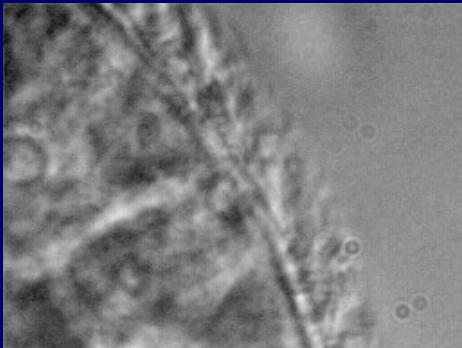
Exemples de battements ciliaires

Normal

Immobile

Dyskinétique

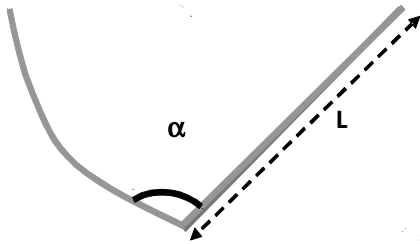
Vitesse normale (355 images/sec)



Calcul de 12 paramètres objectifs

A partir des mesures temporo-spatiales

8 paramètres simples



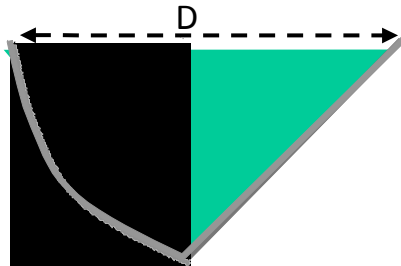
Longueur du cil (μm)

Angle de battement ($^{\circ}$)

Fréquences (Hz) (globale, phases active et passive)

Pauses (ms) (globale, aller et retour)

4 paramètres complexes



Distance parcourue par sec (μm)

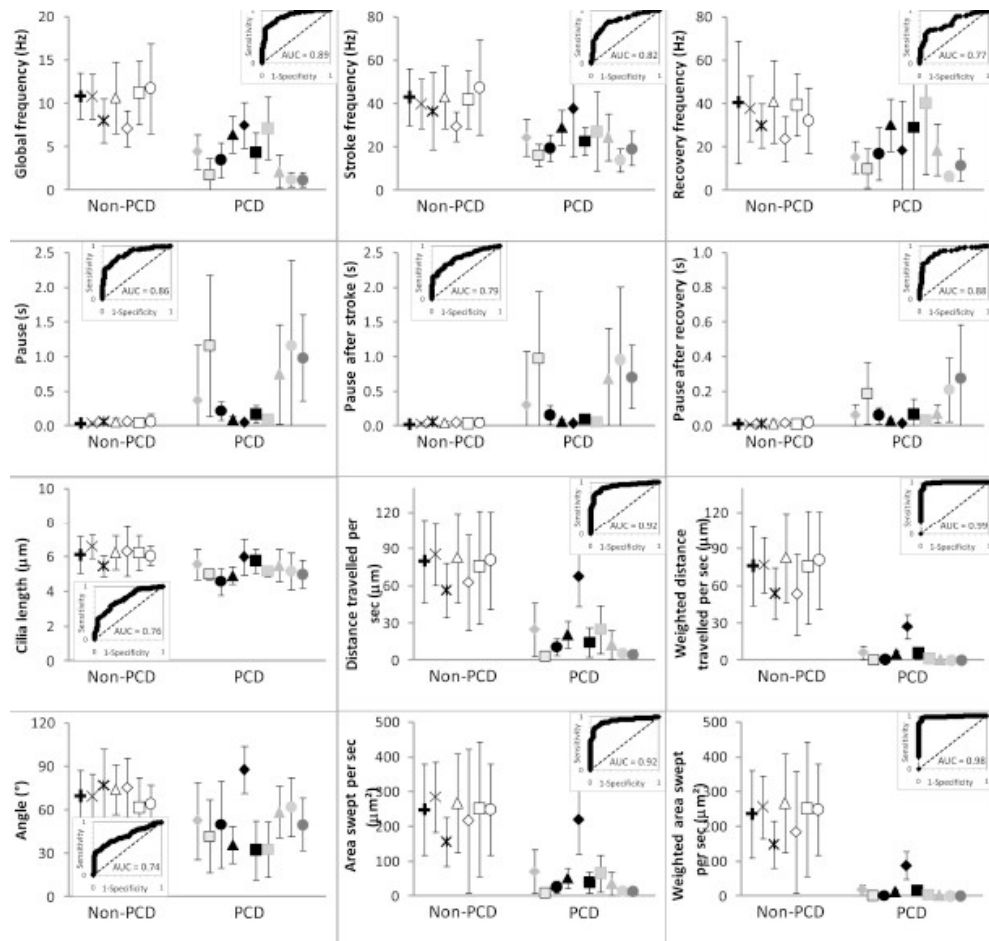
sans et avec pondération par % de c. battantes

Surface couverte par sec (μm^2)

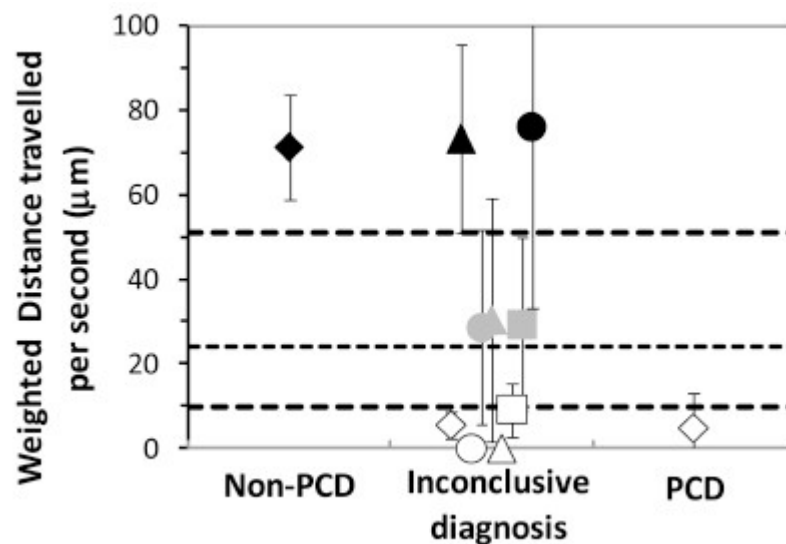
sans et avec pondération par % de c. battantes

Intérêt de la vidéomicroscopie à haute vitesse

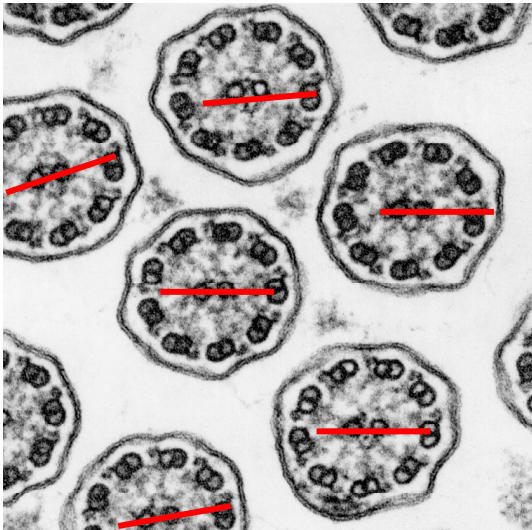
Paramètres différents entre DCP et contrôles



Valeur diagnostique pour la DCP



Analyse de l'ultrastructure



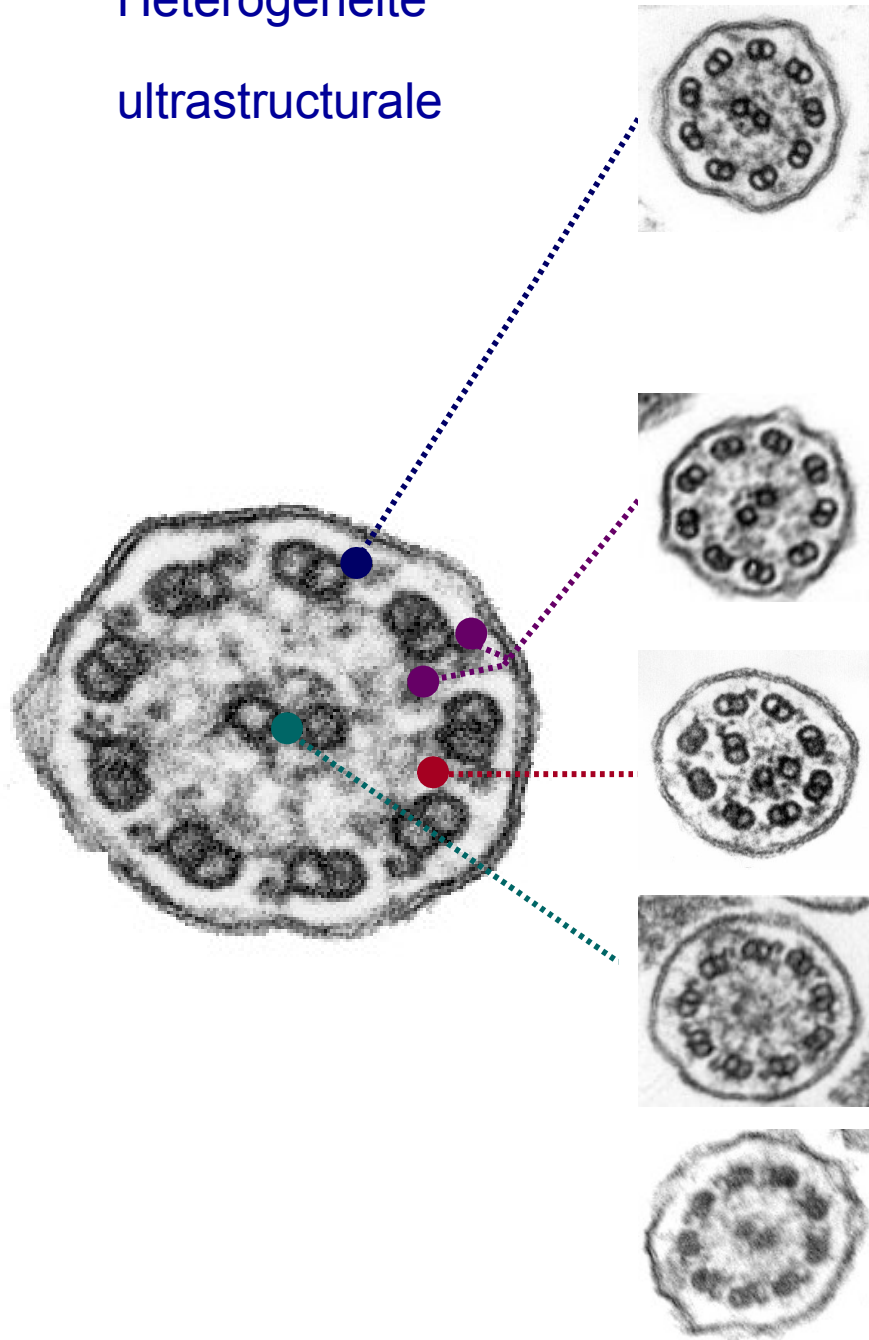
- ✓ quantitative (%)
- ✓ anomalie dominante
- ✓ orientation, extrêmité

>30 coupes axonémales de > 10 cellules ciliées

normal : < 15% cils anormaux

DCP : tous les cils portent la même anomalie

Hétérogénéité ultrastructurale



absence des bras de dynéine externes

30%

absence des deux bras de dynéine

30%

absence des bras de dynéine internes

15%

anomalies du complexe central

15%

PCD avec cils « normaux » et autres phénotypes

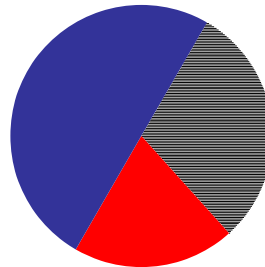
10%

Résultats des explorations ciliaires

~300 prélèvements/an pour suspicion de DCP



Diagnostic exclu
~50%



Diagnostic
confirmé
~20%

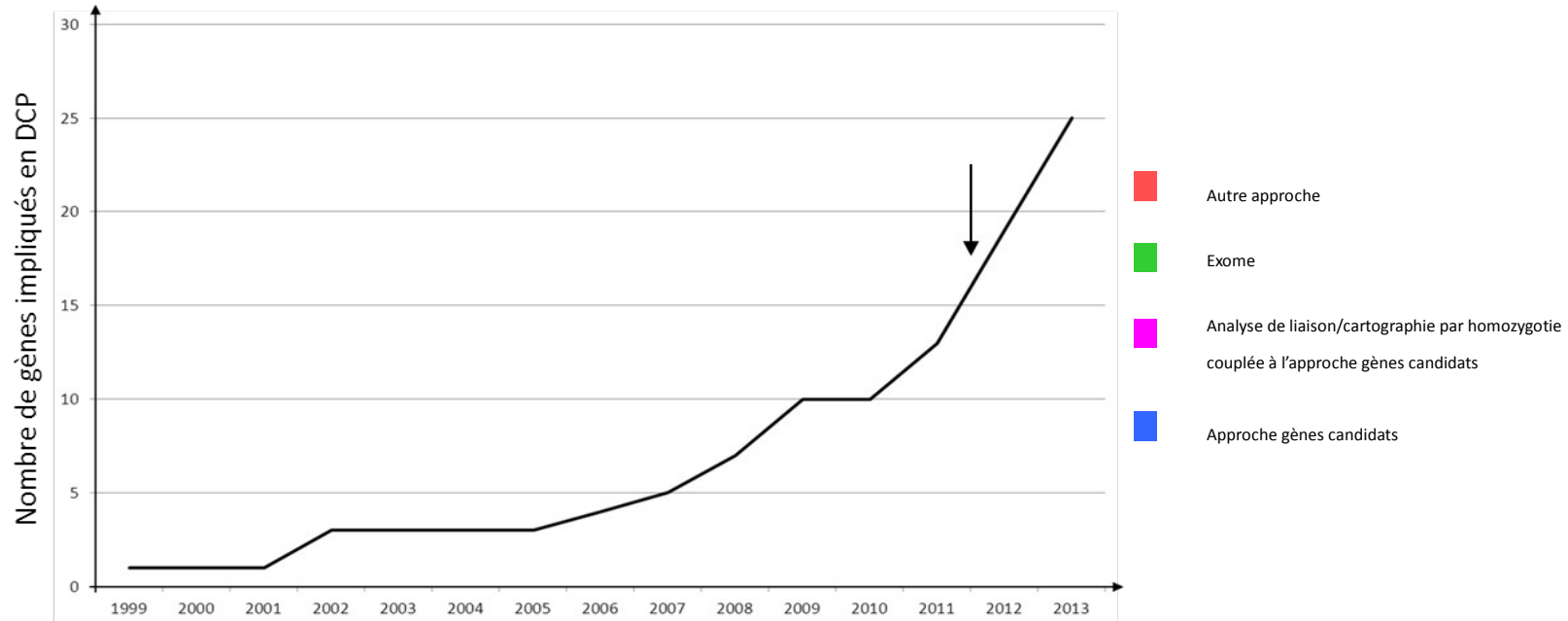
Diagnostic
possible
~30%

Résultats DISCORDANTS
NO, battement
et ultrastructure



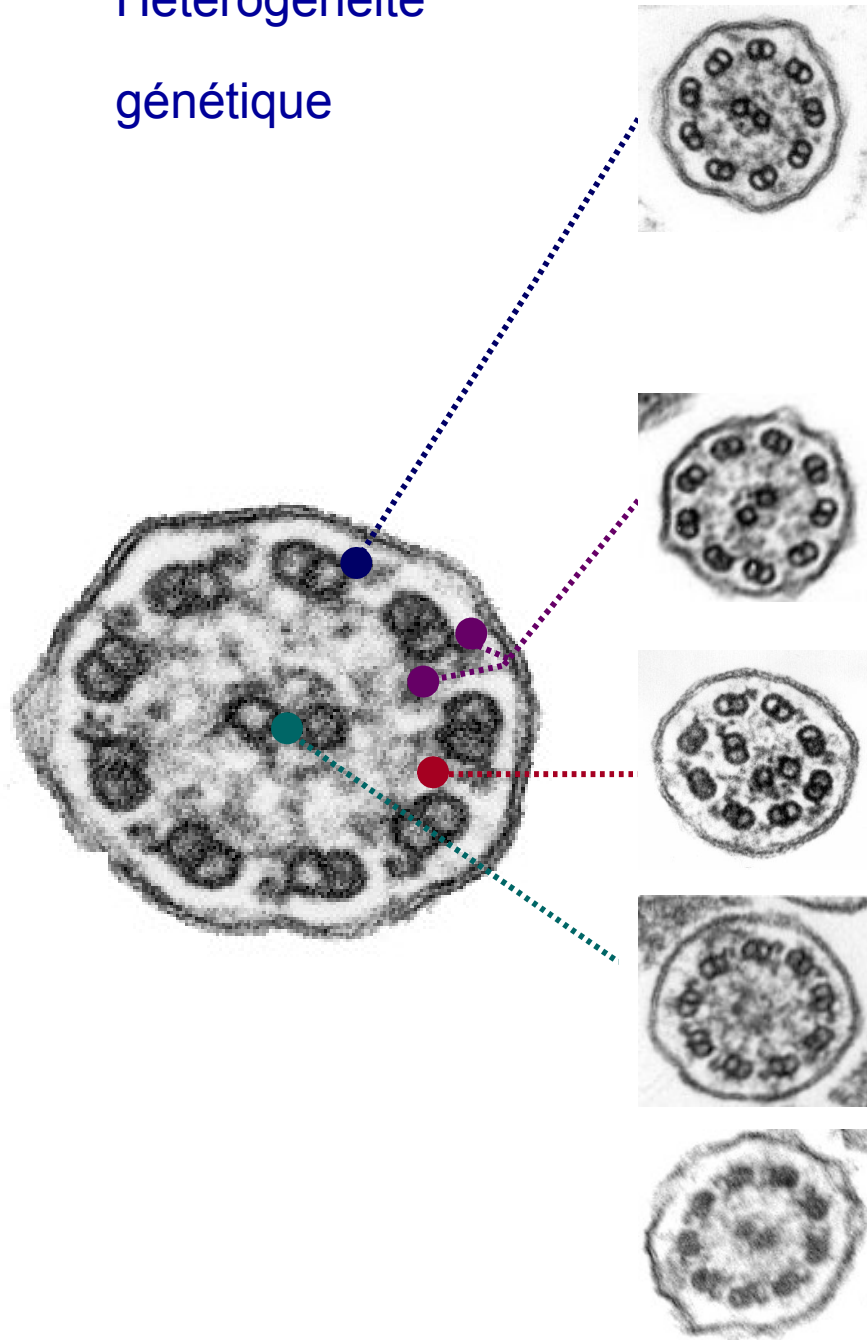
Analyse génétique ?

Recherche de gènes impliqués dans les DCP



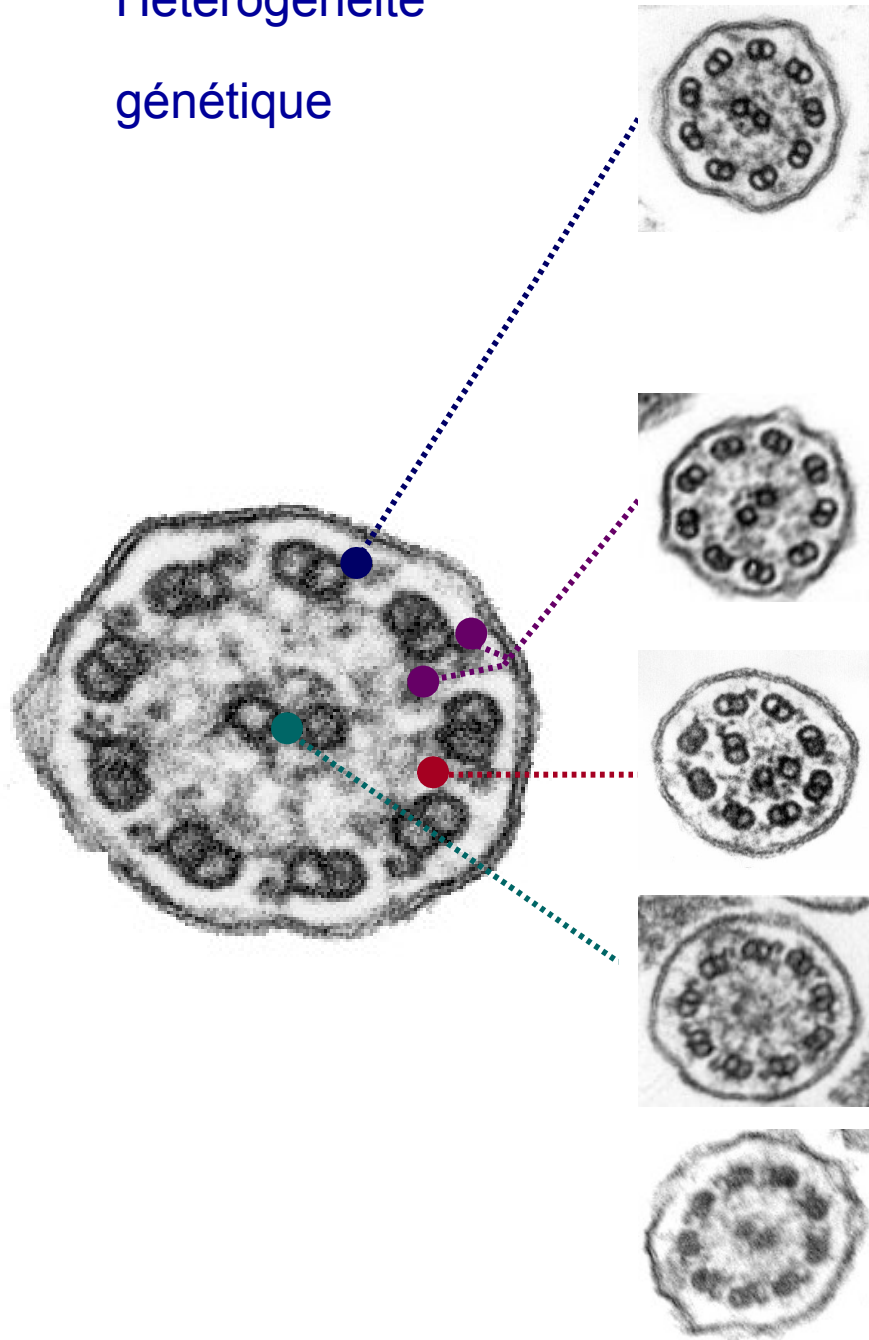
- hausse exponentielle du nombre de gènes impliqués en DCP
- développement des techniques de séquençage haut débit
- modification de la stratégie de diagnostic et de recherche

Hétérogénéité génétique



DNAI1	Pennarun et al., Am. J. Hum. Genet. 1999
DNAH5	Olbrich et al., Nat. Genet. 2002
DNAI2	Loges et al., Am. J. Hum. Genet. 2008
TXNDC3	Duriez et al., PNAS, 2007
DNAL1	Mazor et al., Am. J. Hum. Genet. 2011
CCDC114	Onoufriadis et al., Am. J. Hum. Genet. 2012
	Knowles et al., Am. J. Hum. Genet. 2012
ARMC4	Hjeij et al., Am. J. Hum. Genet. 2013
DNAAF1	Duquesnoy et al., Am. J. Hum. Genet. 2009
DNAAF2	Omran et al., Nature, 2008
RPGR	Moore et al., J. Med. Genet. 2006
DNAAF3	Mitchison et al., Nat.Genet. 2012
CCDC103	Panizzi et al., Nat. Genet. 2012
HEATR2	Harani et al., Am. J. Hum. Genet. 2012
LRRC6	Kott et al., Am. J. Hum. Genet. 2012
DYX1C1	Tarkar et al., Nat. Genet. 2013
SPAG1	Knowles et al., Am. J. Hum. Genet. 2013
ZMYND10	Moore et al., Am. J. Hum. Genet. 2013
	Zariwala et al., Am. J. Hum. Genet. 2013
C21orf59	Austin-Tse et al., Am. J. Hum. Genet. 2013
CCDC39	Merveille et al., Nature Genetics, 2011
CCDC40	Becker-Heck et al., Nature Genetics, 2011
RSPH4A	Castelmon et al., Am. J. Hum. Genet. 2009
RSPH9	
HYDIN	Olbrich et al., Am. J. Hum. Genet. , 2012
RSPH1	Kott et al., Am. J. Hum. Genet. , 2013
DNAH11	Bartoloni et al., PNAS, 2002
DRC1	Wirschell et al., Nature Genetics, 2013
CCDC65	Horani et al., PLoS One, 2013

Hétérogénéité génétique



DNAI1 Penn

DNAH5 Olbric

DNAI2 Loges

TXNDC3 Durie

DNAL1 Mazo

CCDC114 Onouj

Know

ARMC4 Hjeij e

DNAAF1 Duque

DNAAF2 Omra

RPGR Moon

DNAAF3 Mitch

CCDC103 Panizi

*HEATR2** Harar

LRR6 Kott e

DYX1C1 Tarkai

SPAG1 Know

ZMYND10 Moon

Zariw

C21orf59 Austir

CCDC39 Merv

CCDC40 Becke

RSPH4A Castel

RSPH9

HYDIN Olbric

RSPH1 Kott e

DNAH11 Bartc

DRC1 Wirs

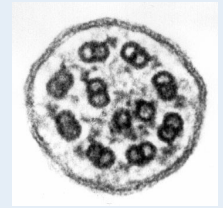
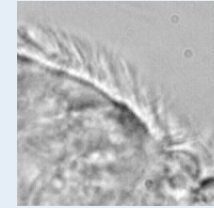
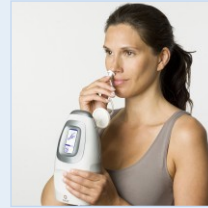
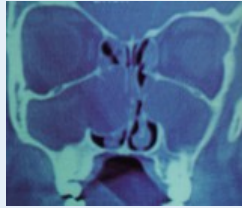
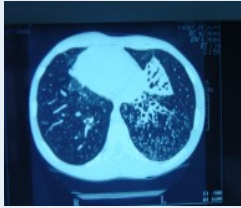
CCDC65 Horai

Pour >50% des patients, le gène causal
reste à identifier.

Démarche diagnostique

1: Phénotype

Diagnostic de DCP



Syndrome sinopulmonaire, mesure du débit nasal de monoxyde d'azote (NO)
explorations ciliaires (battement et ultrastructure)



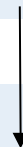
2: Génomique

Analyse moléculaire

gènes sélectionnés selon le phénotype ultrastructural

Identification de mutations causales

Pas de mutation dans un gène connu de DCP



3: Recherche

Recherche de corrélations
phénotype/génotype

Recherche de nouveaux gènes de DCP
- gènes candidats
- approches pangénomiques :
cartographie par homozygotie ± exome

Remerciements



- **PCD patient associations**
- **U.955, Equipe 13 (Mondor, Créteil)**

D. Isabey et B. Louis

- **U.933 (Trousseau, Paris)**

S. Amselem et E. Escudier



Service d'histologie Intercommunal (Créteil)

I. Abd El Samad et A.M. Vojtek

Services d'ORL

- **Intercommunal and Mondor (Créteil)**

A. Coste

- **Trousseau-Necker (Paris)**

N. Garabédian et G. Roger[†]

Services de pneumologie

- **Intercommunal (Créteil)**

B. Housset et L. Bassinet

- **Trousseau (Paris)**

A. Clément et A. Tamalet

- **Bichat (Paris)**

B. Crestani