

UNIVERSITE RENE DESCARTES
(Paris 5)

FACULTE DE MEDECINE RENE DESCARTES PARIS 5

ANNEE 2006

N°

THESE

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

DIPLOME D'ETAT

PAR

Mlle. Hélène SUILS

Née le 17 novembre 1976 à Clamart

Présentée et soutenue publiquement le décembre 2006

**Grossesse chez une patiente atteinte de la maladie de
Crigler-Najjar. A propos d'une observation clinique.**

Président du Jury : Monsieur le Professeur Philippe LABRUNE

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Vincent GAJDOS

RESUME :

La maladie de Crigler-Najjar est une maladie génétique extrêmement rare. La grossesse chez une patiente atteinte de cette maladie est un évènement encore plus rare. Cette maladie se caractérise par un déficit complet ou incomplet en uridine-diphosphate glucuronosyltransférase (UGT1A1), l'enzyme hépatique responsable de la glucuroconjugaison de la bilirubine. Les patients atteints de cette maladie ont une hyperbilirubinémie non conjuguée élevée et le traitement actuel est la photothérapie quotidienne. Les patients atteints de la maladie de Crigler-Najjar ont un risque permanent d'ictère nucléaire et ils décédaient historiquement durant la période néonatale Il y a donc peu d'adulte atteints de cette maladie et extrêmement peu de femmes en âge de procréer. La prise en charge des patients atteints de cette affection a cependant beaucoup évolué, ce qui a permis dans la majorité des cas d'éviter les complications neurologiques inhérentes à l'hyperbilirubinémie non conjuguée de cette maladie. La grossesse chez une patiente atteinte de la maladie de Crigler-Najjar représente un vrai défi thérapeutique : en effet, cela pose de réelles questions comme la potentielle neurotoxicité fœtale de l'hyperbilirubinémie maternelle ainsi que la possible décompensation de la pathologie maternelle. Nous présentons l'observation d'une patiente atteinte de la maladie de Crigler-Najjar qui a pu mener à bien une grossesse et donner naissance à un bébé en bonne santé grâce à une prise en charge qui a associé une photothérapie intensive et des perfusions d'albumine régulières. Après une revue de la littérature concernant les données connues du métabolisme de la bilirubine fœtale nous détaillons les cas rapportés de grossesses chez des patientes atteintes de cette maladie.

TITRE (ANGLAIS)

Pregnancy in a Crigler-Najjar patient: Focus on one clinical report

RESUME (ANGLAIS)

Crigler-Najjar syndrome is a scarce congenital inborn of hepatic bilirubin metabolism. Pregnancy in Crigler-Najjar is an even more exceptional event. This syndrome is caused by the deficiency of bilirubin uridinediphosphate glucuronosyltransférase activity (UGT1A1). It is characterized by permanent unconjugated hyperbilirubinemia. The 2 types of Crigler-Najjar can be distinguished based on their response to Phenobarbital treatment. On the one hand, Crigler-Najjar type I patients have severe unconjugated bilirubinemia, which does not respond to Phenobarbital. On the other hand, among Crigler-Najjar type II patients, hyperbilirubinemia significantly decreases under Phenobarbital. Such a difference is caused by the total loss of UGT1A1 activity in Crigler-Najjar type I, whereas the loss is only partial in Crigler-Najjar type II. Pregnancy in Crigler-Najjar is an exceptional event and the risk of bilirubin neurotoxicity for both mother and foetus makes it a therapeutic challenge. Indeed, this disease manifests itself during the first day of life with high hyperbilirubinémie rate and affected infants are at high risk of bilirubin-induced brain damage and use to die during infancy. There is therefore only a few adults with this syndrome and even fewer women in age of procreate. The management of patients with this syndrome has evolved a lot and now prevents from kernicterus. In the present document, we will first report a successful pregnancy case: a young Crigler-Najjar mother, treated until delivery with intensive phototherapy and semi monthly albumin infusions. Then, we will review the different aspects of bilirubin metabolism at foetus stage, and finally we will describe reported all known cases of pregnancy with Crigler-Najjar.

DISCIPLINE-SPECIALITE DOCTORALE: Médecine Générale

MOTS-CLEFS : Grossesse, Maladie de Crigler-Najjar, Hyperbilirubinémie non conjuguée, Ictère, Fœtus, Ictère Nucléaire, Glucuroconjugaison, Uridine-diphosphate glucuronosyltransférase, Photothérapie, Albumine.

A Yacine, Idris et Anna.

REMERCIEMENTS

Merci à Monsieur le Professeur Philippe Labrune de m'avoir fait l'honneur de présider ce Jury. J'ai pu bénéficier de votre enseignement passionnant durant un stage en tant qu'interne dans votre service de pédiatrie. C'est après ce passage dans votre service que j'ai eu envie de continuer à travailler en pédiatrie.

Merci à Monsieur le Dr Vincent Gajdos d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse. Merci pour ta disponibilité, ta bienveillance et ta confiance. J'ai appris plein de chose en travaillant à tes cotés et en particulier la rigueur et l'exigence.

Merci à Monsieur le Professeur Hervé Fernandez d'avoir accepté d'être membre de ce jury. J'ai eu la chance d'être interne dans votre service de Gynécologie-Obstétrique ou j'ai pu me placer du coté maternel, le sujet de cette thèse m'a intéresser grâce a ce passage.

Merci à Monsieur le Professeur Jean Paul Dommergues d'avoir accepté d'être membre de ce jury

Merci à Monsieur le Dr Jean-Claude Mselati de sa confiance et de sa patience durant tout le travail de cette thèse.

Merci aux infirmières des services de pédiatrie de l'hôpital Bécclère et d'Orsay au contact desquelles j'ai appris tant de choses durant mes stages.

Merci à mes parents de leur soutien et de leur confiance indéfectible
durant mes études.

TABLE DES MATIERES

<i>TABLE DES MATIERES</i>	4
<i>LISTE DES ILLUSTRATIONS</i>	6
INTRODUCTION	7
NOTRE CAS CLINIQUE	9
<i>ANTECEDENTS PERSONNELS</i>	9
<i>GROSSESSE</i>	10
LES HYPERBILIRUBINEMIES NON CONJUGUEES FAMILIALES	16
<i>HISTORIQUE</i>	16
<i>La maladie de Crigler-Najjar</i>	16
<i>La maladie de Gilbert</i>	17
<i>LA CLINIQUE</i>	17
<i>La maladie de Crigler-Najjar</i>	17
<i>La maladie de Gilbert</i>	18
<i>LA GENETIQUE</i>	19
<i>Le gène de L'UGT1A1</i>	19
<i>Les différentes altérations génétiques</i>	21
<i>Les mutations du promoteur et de l'exon 1</i>	21
<i>Les séquences codantes : l'exon 1 et les quatre derniers exons : exons 2, 3,4 et 5</i>	23
<i>L'association des différentes mutations hétérozygotes composites :</i>	24
<i>Les séquences codantes</i>	24
<i>Les séquences codantes et le promoteur</i>	25
<i>L'hétérogénéité allélique</i>	27
<i>TRAITEMENTS DE LA MALADIE DE CRIGLER-NAJJAR</i>	27
<i>Traitement de fond</i>	27
<i>Transplantation hépatique</i>	27
<i>Photothérapie</i>	29
<i>Traitement des poussées</i>	30
<i>Albumine</i>	30
<i>Autres traitements</i>	30
<i>Perspective : La thérapie génique</i>	31
METABOLISME	35
<i>LE METABOLISME DE LA BILIRUBINE</i>	35

<i>Production de la bilirubine</i>	35
<i>Captation par le foie</i>	35
<i>Conjugaison hépatocytaire</i>	36
<i>Excrétion dans la bile</i>	36
<i>Cycle entéro-hépatique</i>	36
LE METABOLISME DE LA BILIRUBINE CHEZ LE FCETUS	37
<i>Productions</i>	37
<i>Conjugaison</i> :.....	38
<i>Excrétion</i> :.....	41
<i>La formation de la bilirubine dans les maladies fœtales hémolytiques</i>	44
<i>La bilirubine dans le liquide amniotique</i>	45
<i>Transport et liaison</i>	45
<i>Liaison Bilirubine/Albumine</i>	45
<i>Rapport molaire</i>	48
<i>Ictère nucléaire</i>	54
METABOLISME DE LA BILIRUBINE CHEZ LE NOUVEAU-NE	56
CONTOURNEMENT DU METABOLISME	58
HYPERBILIRUBINEMIE MATERNELLE ET LE FCETUS	59
<i>TOXICITE</i>	59
<i>HYPERBILIRUBINEMIE CONJUGUEE</i>	59
<i>HYPERBILIRUBINEMIE MATERNELLE NON CONJUGUEE ET GROSSESSE</i>	61
<i>COMPARAION DES CAS DE LA LITTERATURE</i>	66
DISCUSSION ET REFLEXION A PARTIR DU CAS CLINIQUE	68
CONCLUSION	71
REFERENCES	73

LISTE DES ILLUSTRATIONS

FIGURE 1:EVOLUTION DU RAPPORT BILIRUBINE/ALBUMINE DURANT LA GROSSESSE ..	11
FIGURE 2: LOCUS UGT1 EN 2Q37	20
FIGURE 3 CORRELATION ENTRE LES CONCENTRATIONS DE BILIRUBINE ET LA LONGUEUR DE LA TATAA BOX	21
FIGURE 4: REPARTITION DES DIFFERENTES MUTATIONS DECRITE PAR SERVEDIO SUR LE GENE UGT1A1 POUR LES MALADIES DE CRIGLER-NAJJAR DE TYPE 1 ET DE TYPE 2.[18].....	27
FIGURE 5: WESTERN BLOT	32
FIGURE 6: PCR ET RT-PCR.....	33
FIGURE 7: LA CAPTATION DE LA BILIRUBINE NON CONJUGUEE PAR L'HEPATOCYTE ET L'EXCRETION DE LA BILIRUBINE CONJUGUEE DANS LA BILE.	37
FIGURE 8 DEVELOPPEMENT DE LA BILIRUBINE DANS LA BILE FCETALE HUMAINE.....	40
FIGURE 9:L'EVOLUTION DU RAPPORT BILIRUBINE CONJUGUEE /BILIRUBINE NON CONJUGUEE DURANT LA VIE FCETALE.	41
FIGURE 10: LA BILIRUBINE DANS LA CIRCULATION CEREBRALE.....	46
FIGURE 11 CONCENTRATION DE LA BILIRUBINE NON LIEE EN FONCTION DU RAPPORT MOLAIRE BILIRUBINE /ALBUMINE.	48
FIGURE 12. ICTERE NUCLEAIRE ET RAPPORT MOLAIRE	49

Introduction

L'hyperbilirubinémie non conjuguée familiale ou maladie de Crigler-Najjar, du nom de ses premiers descripteurs est une maladie génétique extrêmement rare. La grossesse chez une patiente atteinte de cette maladie est un évènement encore plus rare.

Cette maladie est causée par un déficit complet de l'activité de l'enzyme hépatique responsable de la glucuroconjugaison de la bilirubine appelée uridine-diphosphate glucuronosyltransférase (UGT1A1).

On distingue 2 types de maladie de Crigler-Najjar selon la possibilité d'induire une activité enzymatique par l'administration de phénobarbital et donc de diminuer les concentrations sériques de bilirubine.

Les patients atteints de la maladie de Crigler-Najjar de type 1 ont une hyperbilirubinémie non conjuguée très élevée non affectée par le traitement inducteur. Ces patients ont un risque permanent d'encéphalopathie bilirubinémique malgré une photothérapie quotidienne prolongée (10 à 12 heures par jour). Le seul traitement radical est la greffe hépatique. Les patients atteints de la maladie Crigler-Najjar de type 2 ont une hyperbilirubinémie non conjuguée souvent moins élevée et surtout sensible au phénobarbital. Grâce à ce traitement inducteur, ils présentent un risque considérablement moins important de complications neurologiques.

Les principales questions concernant la grossesse chez une patiente atteinte de la maladie de Crigler-Najjar, sont la potentielle neurotoxicité fœtale de l'hyperbilirubinémie maternelle ainsi que la possible décompensation de la pathologie maternelle.

Dans la première partie, nous présenterons l'une des premières observations d'une grossesse chez une patiente atteinte de la maladie de Crigler-Najjar de type 1 en décrivant et argumentant la prise en charge de cette grossesse. La deuxième partie est un rappel sur les hyperbilirubinémies non conjuguées familiales comme la maladie de Crigler-Najjar ou la maladie de Gilbert. La troisième partie est une revue de la littérature concernant les données connues du métabolisme de la bilirubine fœtale. Dans la quatrième partie, nous détaillerons les cas rapportés de grossesses chez des patientes atteintes de maladie de Crigler-Najjar, en discutant et comparant ces observations à celle de notre patiente.

Notre cas clinique

ANTECEDENTS PERSONNELS

Il s'agit d'une jeune femme de 28 ans d'origine espagnole qui est suivie depuis sa naissance dans le service de pédiatrie de l'hôpital Béclère.

A la naissance, elle a présenté un ictère sévère à bilirubine non conjuguée qui a nécessité une exsanguino-transfusion, puis une photothérapie quotidienne a été nécessaire pour maintenir les concentrations de bilirubine en dessous du seuil de neurotoxicité. Devant la suspicion de la maladie de Crigler-Najjar de type 2, un traitement par phénobarbital a été tenté mais il s'est révélé inefficace. A 4 mois, le diagnostic de maladie de Crigler-Najjar de type 1 a été posé par une biopsie hépatique qui montrait une absence totale de l'activité enzymatique de l'UGT.

Dès lors il a été instauré un traitement par photothérapie pendant 10 à 12 heures par jour, avec une évaluation clinique régulière. Après l'identification du gène de l'UGT1A1, les études moléculaires ont montré que la patiente était homozygote pour une mutation dans l'exon 2 du gène UGT1A1, au codon 923 à l'origine de la substitution d'une glycine par une glutamine. Cette patiente possédait deux allèles sauvages dans la région du promoteur TA6/TA6 du gène UGT1A1.

En dehors de l'ictère cutanéomuqueux, l'examen clinique a toujours été normal.

Le développement psychomoteur a lui aussi toujours été normal et harmonieux.

Notre patiente a eu une scolarité normale, et après son bac, a fait des études supérieures ; elle est aujourd'hui professeur d'espagnol dans le secondaire.

GROSSESSE

A 28 ans, Mme C. est enceinte pour la première fois. Au début de la grossesse (6 semaines), ses concentrations sériques de bilirubine étaient de $400 \mu\text{mol/l}$ ($23,5 \text{ mg/dl}$) avec un rapport molaire bilirubine/albumine de 0,52.

Le début de la grossesse a été marqué par une augmentation des bilirubinémies. Devant l'élévation de la bilirubinémie maternelle et la crainte de la toxicité de l'hyperbilirubinémie non conjuguée maternelle sur le cerveau fœtal, il a été décidé d'intensifier les traitements capables de réduire l'hyperbilirubinémie maternelle. La photothérapie est augmentée, en durée (12 heures par jour) et en intensité (augmentation du nombre de lampes de 20 à 36). De plus pour maintenir la concentration de bilirubine non conjuguée et non liée le plus bas possible, il a été pratiqué des perfusions d'albumine (1g/kg) bimensuelles.

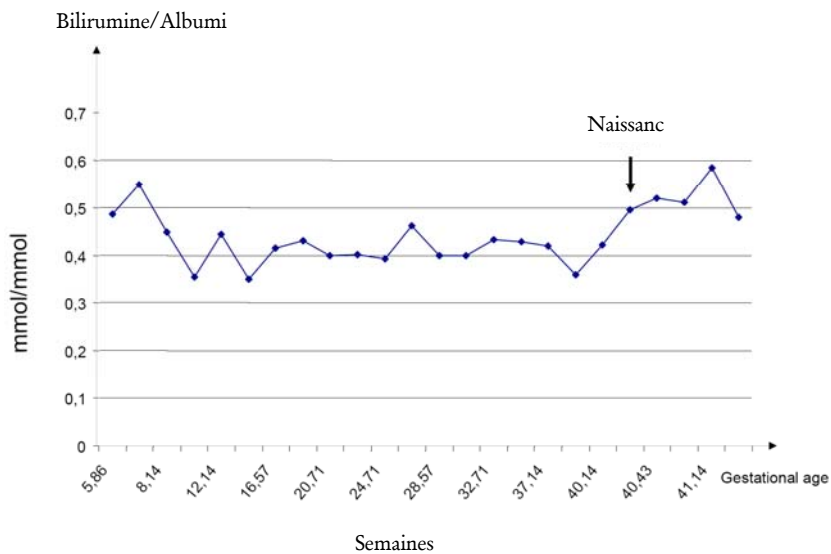


Figure 1: Evolution du rapport Bilirubine/Albumine durant la grossesse

La bilirubinémie non conjuguée et le rapport bilirubine/albumine sont étudiés toutes les 2 semaines.

Ce traitement avec photothérapie intensive et perfusions d'albumine bimensuelles a permis de maintenir les concentrations sériques de bilirubine entre $230 \mu\text{mol}$ ($13,5 \text{ mg/dl}$) et $280 \mu\text{mol/l}$ ($16,5 \text{ mg/dl}$) et des rapports molaires bilirubine/albumine inférieurs à 0,45 durant toute la grossesse.

Les échographies fœtales réalisées à 12, 18, 22 et 32 semaines d'aménorrhées étaient normales.

Une IRM cérébrale anténatale a été pratiquée à 32 SA et elle n'a montré aucune anomalie.

A 39 SA, la photothérapie est encore intensifiée (14 heures par jour).

Compte tenu de la très faible incidence de cette affection (1/1000000) et du mode de transmission autosomique récessif, il n'y a pas eu de recherche moléculaire de maladie de Crigler-Najjar chez le père, pas plus que de diagnostic anténatal.

Cependant, la recherche moléculaire de la maladie de Gilbert a été réalisée chez le père et a montré qu'il ne présentait pas cette maladie. Cette recherche était justifiée par la fréquence élevée de cette maladie (3 à 10%) [1]. Dans la maladie de Gilbert, l'activité de l'UGT1A1 est diminuée. La maladie de Gilbert est souvent impliquée dans les ictères néonataux prolongés ce d'autant qu'elle est associée à d'autres pathologies [2] (pyélonéphrite [3], sténose du pyllore [4] ou maladie hémolytique [5]). Ici le bébé hérite forcément de l'allèle muté de sa maman. Si le bébé avait aussi hérité d'un allèle avec une mutation pour la maladie de Gilbert, on aurait pu craindre un ictère sévère et prolongé à la naissance.

A 40 +3 SA, Mme C. a mis au monde par césarienne, pour stagnation de la dilatation, une petite fille Celia qui pesait 3460g, mesurait 50 cm et avait un périmètre crânien de 35 cm. L'Apgar était de 10 à 1 et 3 minutes. L'examen clinique réalisé à la naissance était normal en dehors d'un ictère franc. A la naissance, la bilirubinémie au cordon était de 222 $\mu\text{mol/l}$ (13,0 mg/dl) et à 1 heure de vie à 250 $\mu\text{mol/l}$ (14,7 mg/dl). Le nouveau-né a donc été placé sous photothérapie intensive pendant 9 heures, ce qui a permis de réduire la concentration sérique de bilirubine à 187 $\mu\text{mol/l}$ (11 mg/dl). A 24 heures de vie l'enfant présente une nouvelle élévation de sa bilirubinémie à 230 $\mu\text{mol/l}$ (13,5 mg/dl) qui justifie une seconde séance de photothérapie intensive de 4 heures.

Dans les jours suivants, la bilirubine décroît progressivement chez le nouveau-né.

Supprimé :

Bilirubine		
Jour 1	215 $\mu\text{mol/l}$	12,6 mg/dl
Jour 2	200 $\mu\text{mol/l}$	11,7 mg/dl
Jour 6	165 $\mu\text{mol/l}$	9,7 mg/dl
Jour 13	118 $\mu\text{mol/l}$	6,9 mg/dl
Semaine 7	21 $\mu\text{mol/l}$	1,2 mg/dl

Tableau 1 : Décroissance de la bilirubinémie

Chez la maman, les bilirubinémies ont réaugmenté légèrement après la naissance jusqu'à 315 $\mu\text{mol/l}$ (18,5 mg/dl). Puis 13 jours après la naissance la concentration sérique de bilirubine est de 305 $\mu\text{mol/l}$ (17,9 mg/dl) avec un rapport molaire bilirubine/albumine de 0,45. Enfin 7 semaines après la naissance, la concentration sérique de bilirubine était de 360 $\mu\text{mol/l}$ (21,1 mg/dl) avec un rapport bilirubine/albumine de 0,49.

A la naissance, on a prélevé du sang chez la mère, dans l'artère ombilicale et dans la veine ombilicale et chez le nouveau-né. La concentration de bilirubine totale et conjuguée dans le sang a été mesurée avec des techniques de routine dans le laboratoire de biochimie. La présence de bilirubine monoglucuronide ou diglucuronide a été évaluée par chromatographie de haute performance après méthanolyse alcaline.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Site prélevé	Bilirubine totale $\mu\text{mol/l}$	Bilirubine non conjuguée $\mu\text{mol/l}$	Bilirubine non conjuguée HPLC, %	Monoglucuronides HPLC, %	Diglucuronides HPLC, %

mère	242	242	100	0	0
Artère ombilicale	222	222	99,80	0,20	0
Veine ombilicale	222	222	99,83	0,17	0
Nouveau-né	247	247	99,80	0,20	0

Tableau 2: Bilirubinémie à la naissance chez la mère, le fœtus, dans l'artère et la veine ombilicale. HPLC: high-performance liquid chromatography

Les bilirubinémies étaient égales chez le nouveau né et chez la mère ainsi que dans l'artère et la veine ombilicale, ce qui suggère qu'il n'y a pas de gradient trans-placentaire.

Il existe une infime proportion de bilirubine monoglucuronide dans le sang du nouveau-né. Or le sérum d'un nouveau-né de mère non ictérique ne contient habituellement pas de dérivés conjugués de la bilirubine. Ceci suggère qu'il y aurait une stimulation de la glucuroconjugaison chez le fœtus par l'hyperbilirubinémie maternelle.

La bilirubine a été mesurée par spectrophotométrie directe dans le liquide amniotique, le méconium et le colostrum :

A la naissance, le liquide amniotique a été prélevé et la concentration de bilirubine était de 2 $\mu\text{mol/l}$. La concentration était donc infime.

Dans le premier méconium, la concentration de bilirubine était de 840 nmol/g (avec 98,23% de bilirubine non conjuguée, 1,72% de monoglucuronide et 0,5 % de diglucuronide). Des concentrations égales

ont été retrouvées dans un méconium contrôle chez un nouveau-né dont la mère ne présentait pas d'ictère.

La concentration de bilirubine dans le colostrum était de 30 nmol/g avec (100% non conjuguée), soit très basse.

A 3 jours de vie, des oto-émissions et une échographie trans-fontanelle ont été réalisées et étaient normales.

Enfin à 2 mois de vie, on réalise chez Célia, une IRM cérébrale qui n'a révélé aucune anomalie, en particulier des noyaux gris centraux.

A 1 an, cette enfant a un examen clinique normal et présente un développement psychomoteur tout à fait harmonieux.

*Les hyperbilirubinémies non conjuguées
familiales*

HISTORIQUE

La maladie de Crigler-Najjar

La maladie de Crigler-Najjar a été décrite pour la première fois en 1952 par Crigler et Najjar [6]. Ils ont rapporté la survenue d'ictères sévères chez 6 enfants d'une même famille et ont démontré le caractère héréditaire de cet ictère néonatal. Ces enfants ont tous développé un ictère nucléaire durant la période néonatale ou l'enfance. La plupart sont décédés des suites de ces complications neurologiques. Les concentrations de bilirubine de ces patients étaient très élevées, autour de $340 \mu\text{mol/l}$ (20 mg/dl).

En 1969, Arias décrit deux groupes de patients atteints d'hyperbilirubinémie non conjuguée familiale. Il distingue alors les patients chez lesquels un traitement par phénobarbital ne modifie pas les bilirubinémies de ceux chez lesquels ce traitement permet une décroissance de celles-ci. Il note par ailleurs que les patients du 2^{ème} groupe ont une hyperbilirubinémie moins élevée que $340 \mu\text{mol/l}$ (20 mg/dl) et qu'aucun n'a présenté d'ictère nucléaire. Arias propose donc la classification suivante : maladie de Crigler-Najjar de type 1 pour les patients « non répondeurs » au phénobarbital et de type 2 pour les autres[7].

En 1979, Berk rapporte l'absence d'activité de la glucuronosyltransférase dans les foies des patients ayant une maladie de Crigler-Najjar de type 1[8].

Depuis l'hyperbilirubinémie non conjuguée familiale s'appelle la maladie de Crigler-Najjar.

La maladie de Gilbert

La maladie de Gilbert a été décrite la première fois en 1901 par Augustin Nicolas Gilbert et ses collaborateurs sous le nom « cholémie simple familiale ».

LA CLINIQUE

La maladie de Crigler-Najjar

La maladie de Crigler-Najjar est très rare (incidence de 1 pour un million de naissances) Elle est liée à un déficit plus ou moins complet de l'activité hépatique de la bilirubine glucuronosyltransférase. La maladie se révèle dès la période néonatale par un ictère précoce, intense et persistant, à bilirubine non conjuguée.

L'hyperbilirubinémie chez les patients atteints de la maladie de Crigler-Najjar de type 1 ne diminue pas avec le traitement par phénobarbital et les patients doivent rester sous photothérapie 10 à 12 heures par jours. Le mécanisme d'action de la photothérapie est imparfaitement connu. Elle aboutit à la formation de photo-isomères de la bilirubine hydrosolubles et qui sont par conséquent plus facilement éliminés dans les urines et dans la bile. Le seul traitement radical est la transplantation hépatique. Les patients ont un risque permanent de développer des complications neurologiques liées à la neurotoxicité de l'hyperbilirubinémie non conjuguée.

L'hyperbilirubinémie chez les patients atteints de la maladie de Crigler-Najjar de type 2 diminue de manière importante avec le phénobarbital, mettant ainsi ces patients à l'abri des complications neurologiques.

Historiquement le diagnostic définitif reposait sur la mise en évidence du déficit enzymatique au niveau hépatique (biopsie hépatique après l'âge de 3 mois). Le déficit était complet pour les patients atteints du CN I et partiel et inductible pour les patients atteints du CN 2.

Les mutations génétiques responsables de la maladie de Crigler-Najjar sont complexes et nombreuses. Certaines de ces mutations sont communes aux types 1 et 2 de la maladie. C'est pourquoi l'étude génétique à elle seule ne permet pas de différencier, sur la simple constatation de la nature de la mutation, une maladie de Crigler-Najjar de type 1 ou 2. Cependant les études moléculaires combinées à l'étude du phénotype et au test d'inductibilité par le phénobarbital permettent de faire le diagnostic de maladie de Crigler-Najjar et sa distinction entre les types 1 ou 2.

Supprimé :

La maladie de Gilbert

La maladie de Gilbert (MIM#143500) est bénigne et très fréquente dans la population puisque son incidence est évaluée, au plan phénotypique à 3 à 10% de la population générale[1].

Les patients atteints de cette maladie ont une hyperbilirubinémie libre, isolée et modérée évoluant par poussées et déclenchée par le stress, les infections et les déshydratations.

La maladie de Gilbert (MIM#143500) est caractérisée par un déficit très partiel en UGT1A1. L'activité de l'UGT1A1 dans la maladie de Gilbert représente 30% de l'activité normale.

LA GENETIQUE

La transmission

La maladie de Crigler-Najjar se transmet selon un mode autosomique et récessif [9]. Cependant le mode de transmission a été longtemps discuté car on retrouvait des bilirubinémies élevées chez certains parents des patients atteints d'une maladie de Crigler-Najjar de type 1 et 2. Il s'agit probablement d'hétérozygotes ayant aussi une maladie de Gilbert [10].

Il est admis que pour que le phénotype de la maladie de Gilbert s'exprime pleinement, le patient doit avoir deux allèles mutés. Cependant des phénotypes incomplets de maladie de Gilbert chez des patients hétérozygotes suggèrent l'existence d'un effet additif des deux allèles de ce gène [1].

Le gène de L'UGT1A1

La maladie de Crigler-Najjar est liée au déficit complet ou incomplet de l'enzyme responsable de la glucuroconjugaison de la bilirubine. La maladie de Gilbert est caractérisée par un déficit très partiel de cette enzyme.

Cette enzyme est l'UDP glucuronosyltransférase1A1 (UGT1A1) (EC 2.4.1.17). Dans l'hépatocyte l'UGT1A1 ajoute 1 ou 2 groupements d'acide glucuronique pour former les conjugués monoglucuronides et

diglucuronides hydrosolubles. L'augmentation de la solubilité aqueuse de la bilirubine facilite son excrétion biliaire.

Cette protéine est codée par un gène qui est localisé sur le bras long du chromosome 2, en 2q37.

Ce gène fait partie d'un locus complexe qui code pour plusieurs UDP-glucuronosyltransférases responsables de la conjugaison de différents substrats. Ce locus s'étend sur 500 kilo bases. Il comprend entre 10 à 14 premiers exons uniques avec leurs propres promoteurs en 5'[11]. Chacun des premiers exons est lié avec 4 exons communs à toutes les isoformes en 3'. Un épissage alternatif permet de former 10 à 14 isoformes, chacune impliquée dans la glucuroconjugaison de substrats différents. Le premier exon unique code la partie N terminale de la protéine soit le site de liaison du substrat. Les 4 derniers exons communs en 3' codent la partie C terminale de la protéine. 2 isoformes issues de ce gène sont responsables de la glucuroconjugaison de la bilirubine. L'UGT1A1 est la principale isoforme.

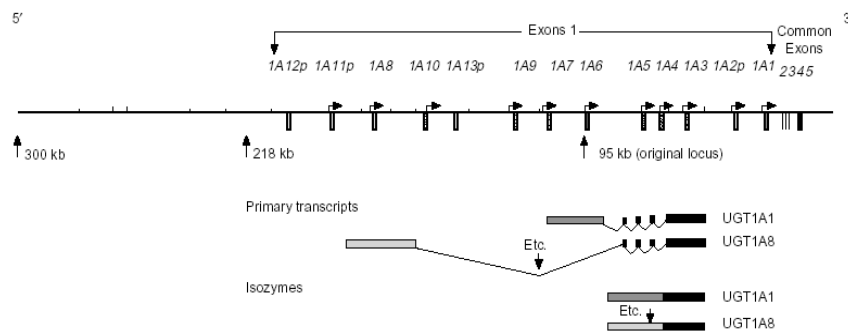


Figure 2: Locus UGT1 en 2q37

Les différentes altérations génétiques

Les mutations du promoteur et de l'exon 1

Une mutation dans le promoteur du gène UGT1A1 (TATA box) est responsable de la maladie de Gilbert en Europe, aux USA et en Afrique. Il s'agit d'une insertion d'une séquence TA dans la TATA box. Normalement cette TATA box contient 6 TA ($A(TA)_6TAA$). Dans le promoteur des patients atteints de la maladie de Gilbert, on retrouve 7 TA ($A(TA)_7TAA$). L'allongement du promoteur altère la reconnaissance et la fixation du site pour la RNA polymérase responsable de la transcription du gène et donc diminue la quantité de transcrit et ainsi l'activité de la protéine [1].

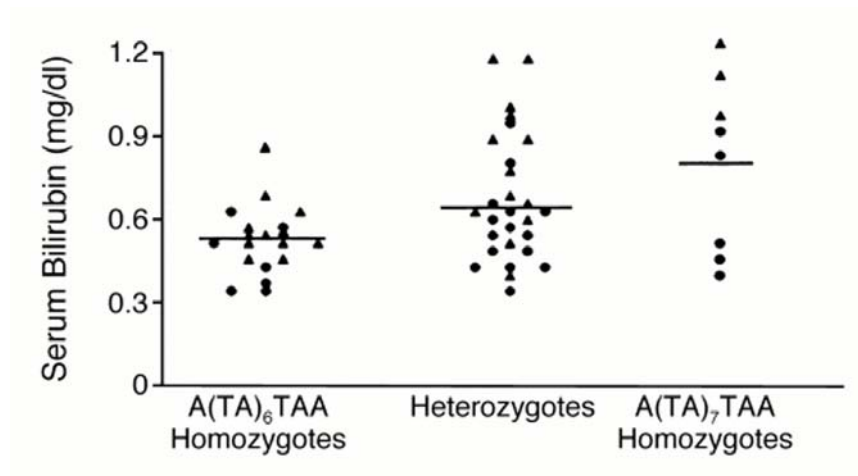


Figure 3: Corrélation entre les concentrations de bilirubine et la longueur de la TATAA box

La Figure 3 présente la corrélation entre les concentrations de bilirubine et le nombre de répétitions de la séquence TA dans le promoteur du gène

UGT1A1 chez 55 patients. Les bilirubinémies moyennes sont plus élevées chez les homozygotes TA7 que chez les hétérozygotes TA6/TA7 et les bilirubinémies des hétérozygotes TA6/TA7 sont plus élevées que celles des homozygotes TA6/TA6. Ceci suggère qu'il y a un effet additif des deux allèles [1].

On note que certains homozygotes pour l'allèle TA7 ont des bilirubinémies normales et de nombreux hétérozygotes ont des bilirubinémies élevées. Ceci suggère que la présence de cette mutation est une condition nécessaire mais pas suffisante.

D'autre part, la fréquence des homozygotes pour cette mutation est de 9% [12]-16% [1] pour les gènes alors que celle du phénotype est de 3 à 10% [1], ce qui confirme bien que la mutation est une condition nécessaire mais non suffisante pour que le phénotype s'exprime, ce qui suggère que d'autres mécanismes rentrent en jeu dans l'expression du phénotype.

Dans la population asiatique, la mutation la plus fréquente est une mutation ponctuelle dans l'exon 1 où une glycine est remplacée par une arginine au codon 71 « G71R ». Dans une étude de Takeuchi [13] qui compare les polymorphismes chez des patients japonais atteints de la maladie de Gilbert à ceux retrouvés chez des témoins, il est montré que parmi les patients atteints de la maladie de Gilbert, 9% sont homozygotes pour la mutation G71R, 33% sont homozygotes pour TA7 et 16% sont hétérozygotes composites (G71R et TA7).

De récentes découvertes ont permis d'identifier un autre polymorphisme responsable de la maladie de Gilbert, il s'agit d'une mutation en amont du promoteur sur une séquence modulatrice de la transcription. C'est une mutation ponctuelle à -3263 (ou -3279) bases en amont de la

TATAbox où une thymine est remplacée par une glutamine. Ce polymorphisme associé à la répétition de la séquence TA dans la TATA box semble être un bon marqueur génétique de la maladie de Gilbert.[14] [15].

Les séquences codantes : l'exon 1 et les quatre derniers exons : exons 2, 3,4 et 5

L'exon 1 est la région qui code la partie C terminale spécifique de chaque isoforme de la protéine. Les quatre exons communs (2, 3, 4 et 5) qui codent la partie N terminale identique pour chacune des isoformes de la protéine

Chez les patients atteints de maladie de Crigler-Najjar de type 1 (CN-I ; MIM#218800) la majorité des mutations décrites concernent l'un des 4 exons communs en 3' mais il a aussi été décrit quelques mutations dans le premier exon du gène UGT1A1. Il s'agit de mutations ponctuelles non sens, faux sens, ou entraînant un décalage du cadre de lecture aboutissant à la création d'un codon stop prématuré. La protéine ainsi formée est tronquée. Il a aussi été décrit des mutations faux sens ou des délétions qui elles n'aboutissent pas à la formation de protéine tronquée. Dans tout les cas cela aboutit à une protéine dont l'activité est nulle et non inductible [10].

Chez les patients atteints de la maladie de Crigler-Najjar de type 2 (CN-II ; MIM#606785), les mutations décrites peuvent concerner le premier exon (avec une fréquence plus élevée que chez les patients de type 1) ou l'un des quatre exons communs[16]. Il s'agit de mutations ponctuelles comme des mutations faux sens et des délétions [16][17]. Ici la protéine formée a une activité faible mais inductible.

L'association des différentes mutations hétérozygotes composites :

LES SEQUENCES CODANTES

Des mutations différentes peuvent se trouver sur les 2 allèles, il s'agit d'individus hétérozygotes composites. Le phénotype peut varier en fonction de la combinaison des mutations[18].

Servedio [18] décrit une mutation non sens dans l'exon 1 sur le codon 576 (c.576 C>G) avec pour conséquence le remplacement d'une tyrosine par un codon stop au niveau de l'acide aminé 192. Cette mutation aboutit à une protéine tronquée. Cette mutation sur un des allèles aboutit à deux phénotypes différents en fonction de la mutation associée sur l'autre allèle. Chez un patient atteint de la maladie de Crigler-Najjar de type 1, cette mutation est associée avec une mutation au niveau du nucléotide 1184 (c.1184G>T). Cette mutation aboutit à la substitution d'une glycine pour une valine au niveau de l'acide aminé 395 sur la protéine (p.G395V). Chez un patient atteint de la maladie de Crigler-Najjar de type 2, cette mutation est associée avec une mutation sur le nucléotide 1130(c.1130G>T). Cette mutation aboutit à la substitution d'une glycine pour une valine au niveau de l'acide aminé 377 sur l'autre allèle (p.G377V).

	Séquence codante	Protéine	phénotype
Allèle 1	(c.576C>G)	Protéine tronquée	Crigler-Najjar type 1
Allèle 2	(c.1184G>T)	(p.G395V).	

Allèle 1	(c.576C>G)	Protéine tronquée	Crigler-Najjar type 2
Allèle 2	(c.1130G>T).	(p.G377V).	

Tableau 3 : Combinaisons des mutations dans les séquences codantes associées aux différents phénotypes.

LES SEQUENCES CODANTES ET LE PROMOTEUR

Certaines mutations dans les séquences codantes peuvent être associées à des mutations dans le promoteur. Kakadol [10] décrit deux patientes atteintes de maladie de Crigler-Najjar de type 1 avec sur le plan moléculaire l'association d'une mutation TA₇ sur le promoteur d'un des allèles et d'une délétion d'une adénine au niveau du codon 1223 de l'autre allèle. Le décalage du cadre de lecture causée par la délétion provoque l'introduction d'un codon stop et la formation d'une protéine tronquée. Le père de ces patients qui ne présentait aucun symptôme, portait la mutation dans la séquence codante sur un des allèles. La mère était hétérozygote TA₇/TA₆.

Sujet	Promoteur	Séquence codante	Protéine	Phénotype
Jumelle 1	TA ₇ /TA ₆	1223delA/normale	Tronquée/normale	CN1
Jumelle 2	TA ₇ /TA ₆	1223delA/normale	Tronquée/normale	CN1
père	TA ₆ /TA ₆	1223delA/normale	Tronquée/normale	Sain
mère	TA ₇ /TA ₆	normale/normale	normale/normale	Sain

Tableau 4 : Combinaisons des mutations dans les séquences codantes et le promoteur associées aux différents phénotypes.

Kakadol [10] décrit aussi un patient atteint de maladie de Crigler-Najjar de type 2 qui était hétérozygote composite pour une mutation TA₇ dans le promoteur et une mutation ponctuelle dans l'exon 5 provoquant la création d'un codon stop prématuré (1490T>A) sur l'autre allèle.

Sujet	promoteur	Séquence codante	Protéine	Phénotype
patient	TA ₇ /TA ₆	(1490T>A)/normale	Tronquée/normale	CN 2
sœur	TA ₇ /TA ₆	(1490T>A)/normale	Tronquée/normale	Gilbert
père	TA ₆ /TA ₆	(1490T>A)/normale	Tronquée/normale	sain
mère	TA ₇ /TA ₆	Normale/normale	Normale/normale	sain

Tableau 5 : Combinaisons des mutations dans les séquences codantes et le promoteur associées aux différents phénotypes.

C'est la combinaison des mutations dans les séquences codantes aux différents génotypes du promoteur qui peut déterminer soit une maladie de Crigler-Najjar de type 1, de type 2 ou un phénotype sain [17].

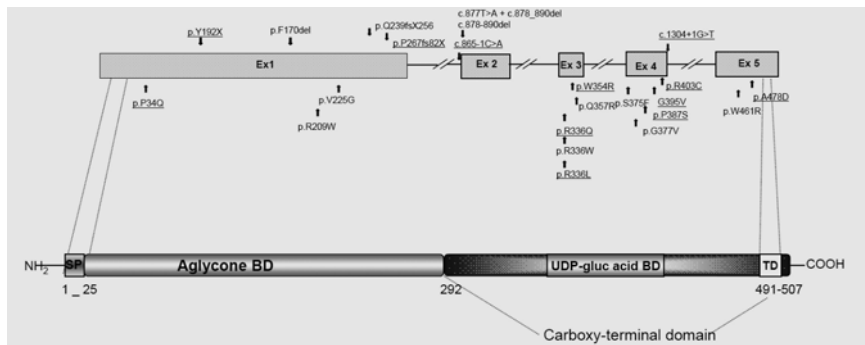


Figure 4: Répartition des différentes mutations décrite par Servedio sur le gène UGT1A1 pour les maladies de Crigler-Najjar de type 1 et de type 2[18].

L'hétérogénéité allélique

La maladie de Crigler-Najjar présente une grande hétérogénéité allélique. A ce jour 77 mutations ont été décrites [17] [18]. Environ 40 mutations ont été rapportées pour la maladie de Crigler-Najjar de type 1 [19].

TRAITEMENTS DE LA MALADIE DE CRIGLER-NAJJAR

Traitement de fond

Transplantation hépatique

Actuellement la transplantation hépatique est le seul traitement définitif. Elle permet une correction définitive du déficit enzymatique et met à

l'abri les patients des complications neurologiques de l'hyperbilirubinémie non conjuguée.

Cependant la morbi-mortalité de la greffe n'est pas négligeable. Selon le Registre Européen de transplantation le taux de survie actuel à 1 an est de 89% et de 86% à 5 ans chez les enfants de plus de 2 ans [20]. Par ailleurs, on peut penser les patients atteints de maladie de Crigler-Najjar ont une meilleure survie dans la mesure où leur état général est moins altéré que celui des patients présentant d'autres indications de greffe du foie comme une cirrhose hépatique, une insuffisance hépatique aiguë ou une maladie cholestatique.

L'indication doit être pesée avec précaution et la décision doit être prise en concertation avec le patient et sa famille en tenant compte des complications immédiates, tardives et de la durée de vie du greffon.

Dans une étude suisse en 1999 sur les résultats d'un programme de transplantation hépatique combiné enfants-adultes, Mentha [21] rapporte une survie de 84% à 5 ans chez les patients transplantés. Les principales complications immédiates observées étaient les complications chirurgicales (24%), les rejets (60% chez les adultes et 83% chez les enfants), les infections (5% des adultes sont décédés d'un sepsis et 13% ont présentés une infection pulmonaire, 72% des enfants ont soufferts d'une complication infectieuse) et la récurrence de la maladie ayant indiquée la transplantation.

Sokal a rapporté en 1995 son expérience de la transplantation hépatique chez 6 enfants atteints de la maladie de Crigler-Najjar de type 1. Parmi ces patients, 3 ont présenté des complications : un patient a présenté une tuberculose miliaire, un autre a fait un rejet de la greffe qui a nécessité

une deuxième transplantation et un troisième a présenté une thrombose de l'artère hépatique[22]. En France, un enfant est décédé un an après la transplantation d'une primo-infection foudroyante à EBV avec atteinte hématologique gravissime.

Les complications tardives liées à l'immunosuppression prolongée sont principalement les syndromes lymphoprolifératifs, l'insuffisance rénale et le diabète de novo[23].

Photothérapie

La photothérapie journalière est le traitement conservateur le plus efficace pour abaisser les concentrations sériques de bilirubine. Le mécanisme est imparfaitement inconnu mais il aboutit à la formation de photo-isomères de la bilirubine, hydrosolubles et donc excrétés dans la bile et dans les urines.

Pour la photothérapie, il faut utiliser des lampes à lumière bleue dont la longueur d'onde se situe entre 420 et 500 newtons-mètres, ces lampes doivent avoir une énergie lumineuse supérieure à $100 \mu\text{watt}/\text{cm}^2/\text{nm}$ et être situées à 20 cm de la peau. Il faut exposer au moins 40% de la peau et au moins 8 à 12 heures par jour.

Dans l'étude de Strauss [24], qui décrit la prise en charge de 20 patients atteints de la maladie de Crigler-Najjar, il est montré qu'avec ces conditions de photothérapie, la bilirubinémie moyenne pour le groupe de patients atteints du syndrome de Crigler-Najjar (19 CN I et 1 CN II) était de $273 \pm 85 \mu\text{mol}$ ($16 \pm 5 \text{mg}$) et le rapport molaire moyen de la bilirubine/albumine était de 0,44 (0,17-0,75).

Traitement des poussées.

Albumine

Dans cette étude il est établi que le rapport molaire bilirubine/albumine doit être inférieur à 0,5 chez le nouveau-né et de 0,7 chez les adultes [25] pour éviter les complications neurologiques.

Durant les hospitalisations de ces patients pour les décompensations de la maladie de Crigler-Najjar comme les hyperbilirubinémies néonatales, les infections, ou les urgences chirurgicales, il est pratiqué des perfusions d'albumine 1 à 2 mg/kg/dose toutes les 12 heures jusqu'à obtenir un rapport molaire bilirubine/albumine inférieur à 0,7 [24].

Autres traitements

Durant les périodes de décompensation de la maladie de Crigler-Najjar, dans l'étude de Strauss d'autres traitements sont utilisés. [24]

Des traitements sont utilisés pour permettre d'accélérer l'élimination urinaire ou hépatique des photo-isomères de la bilirubine comme la photobilirubine et la lumirubine. Une alimentation entérale régulière et l'acide ursodésoxycholique (15-30 mg/kg/j) qui accélère le flux biliaire sont utilisés pour favoriser l'élimination hépato-entérale de la lumirubine. Une hydratation suffisante est mise en place pour permettre une diurèse supérieure à 4 ml/kg/jour ainsi qu'une supplémentation calcique afin de favoriser l'élimination de la photobilirubine.

Ils évitent l'utilisation de médicaments qui sont impliqués dans la liaison bilirubine/albumine et qui déplacent la bilirubine de l'albumine comme l'acide acétylsalicylique, la ceftriaxone, le cotrimoxazole (sulfaméthoxazole - triméthoprim), ou l'aminophylline.

Ils utilisent une perfusion de solutions glucosées (7-10 mg/kg/min) pour maintenir l'euglycémie. L'hyperglycémie ou l'hypoglycémie augmenteraient le passage de la bilirubine non liée à travers la barrière hémato-encéphalique [24].

Ils évitent les situations qui peuvent favoriser l'apparition d'ictère nucléaire comme l'acidose, l'hyperosmolarité, l'hypercapnie, l'hyperglycémie ou l'hypoglycémie [24].

Perspective : La thérapie génique

Les rats Gunn sont les animaux modèles pour le CN I.

Ces dernières années, des essais de thérapie génique sur les Rats Gunn ont été réalisés par différentes équipes.

Le CN I représente un candidat idéal pour la thérapie génique.

La maladie de CN I touche un organe unique : le foie, facilement accessible via la circulation sanguine : c'est un organe homogène dans lequel on peut mesurer efficacement l'effet in vivo de la transduction.

Bellodi-Privato and al. [26] ont montré en août 2005 que la transduction dans les hépatocytes néonataux in vivo en utilisant un vecteur recombinant rétroviral, permettait la correction à long terme du phénotype du CN I chez les rats Gunn. Ils ont formés 3 groupes de rats CN I âgés de 2 jours : un premier groupe à qui on a injecté 200 μ mol de vecteur rétroviral UGT1A1, un deuxième groupe à qui on a injecté 200 μ mol de vecteur rétroviral beta-galactosidase pour un groupe contrôle, et un troisième groupe à qui on a rien injecté du tout pour un autre groupe contrôle. Chez les animaux auxquels a été transféré le gène de l'UGT1A1, la bilirubinémie était normale à 6 semaines après le transfert

et restait normale jusqu'à 34 semaines après le transfert, tandis que dans les groupes contrôle les concentrations de bilirubine sont restées très élevées durant tout le suivi de l'expérience.

Les PCR et RT-PCR ainsi que le western blot ont confirmé la présence et l'expression de l'UGT1A1 quasiment exclusivement dans le foie. Il a été retrouvé des concentrations importantes de bilirubine monoglucuronide ou diglucuronides chez les rats qui avaient été traités. Ils ont estimé que 5 à 10% des hépatocytes avaient été transfectés.

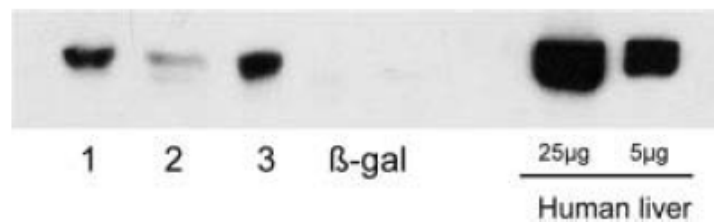


Figure 5: Western blot

Figure 5 : Etude par Western blot des microsomes provenant de fragments hépatique de 3 rats, 13 semaines après le transfert. La présence de la protéine UGT1A1 a été détectée chez tous les animaux. Les microsomes hépatique humains ont été utilisés comme contrôle. Les lignes 1, 2, 3 représentent les 3 rats transfectés avec l'UGT1A1, la ligne beta galactosidase représente un rat contrôle transfecté avec le gène codant la beta-galactosidase.

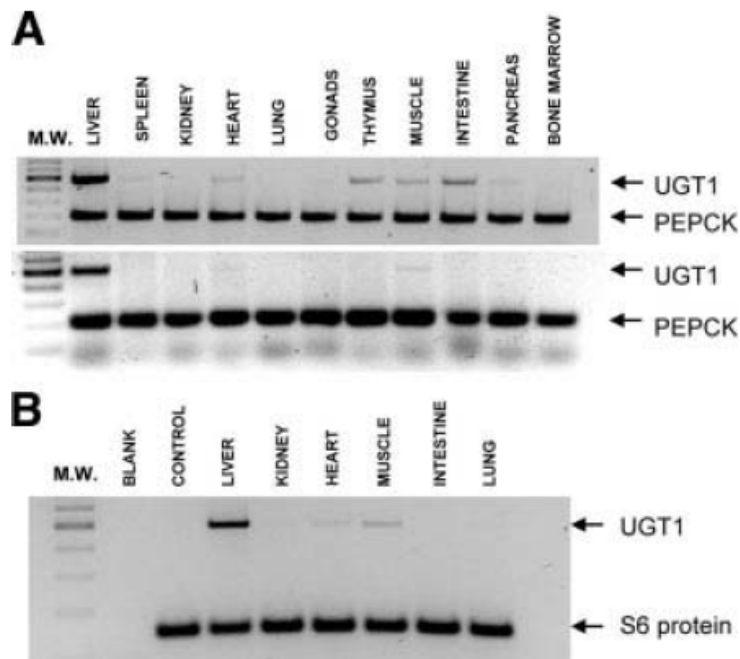


Figure 6: PCR et RT-PCR

Figure 6: Détermination de la distribution et de l'expression du transgène par PCR et RT-PCR. (A) L'ADN a été extrait de différents tissus de 2 animaux tués à 32 semaines après la transfection. La présence de l'UGT1A1 a été détectée par PCR. Comme contrôle un fragment du promoteur du gène PEPCK a été amplifié (B) L'ARN total a été extrait de différents tissus dans lesquels la PCR était positive et soumis à une RT-PCR. L'ARN extrait des foies de rats Gunn non traités a été utilisé comme contrôle (control). La qualité de l'ARN a été vérifiée par amplification d'un fragment de protéine S6 ribosomale.

Cette expérience prouve que l'on peut traiter des rats nouveau-nés en corrigeant le déficit en UGT1A1 et l'hyperbilirubinémie par thérapie génique. D'autres équipes ont réussi le même type d'expérience sur des

rats adultes avec d'autres types de vecteurs[27] [28].Cependant on ne connaît pas la durée d'expression du gène dans les hépatocytes transfectés.

Cela représente un espoir pour les patients atteints de Crigler-Najjar de type 1 [26].

LE METABOLISME DE LA BILIRUBINE

Production de la bilirubine

La bilirubine est le principal produit de dégradation de l'hème. La bilirubine est formée principalement dans la rate, grâce à deux enzymes, l'hème oxygénase (microsomale) et la biliverdine réductase (cytosolique).

La source principale de la bilirubine est la destruction des hématies, dont la durée de vie est de 90 à 150 jours. En outre, 10 à 20 % de la bilirubine proviennent d'autres sources: en premier lieu, le catabolisme de l'hème hépatique (principalement celui des cytochromes); en second lieu, la destruction dans la moelle des précurseurs des hématies avant leur libération dans le sang périphérique (érythropoïèse inefficace).

La production quotidienne de bilirubine est de l'ordre de 250 à 350 mg par jour chez l'adulte.

Captation par le foie

La bilirubine ainsi formée est transportée dans le sang en partie liée à l'**albumine**. Le pigment est ensuite capté par l'hépatocyte après dissociation avec l'albumine. Cette captation de la bilirubine se fait très probablement par diffusion facilitée par l'intermédiaire d'un transporteur, L'OATP2 [29].

Dans les hépatocytes, la bilirubine est liée à des protéines cytosoliques, principalement la **ligandine**, qui appartient à la famille des glutathion-transférases. Cette liaison rend compte du stockage d'une certaine quantité de bilirubine dans l'hépatocyte. La bilirubine conjuguée est

également liée à ces protéines et dans une certaine mesure stockée dans l'hépatocyte [30].

Conjugaison hépatocytaire

La bilirubine native (ou bilirubine non conjuguée) est très peu hydrosoluble. La conjugaison est donc une étape obligatoire pour que la bilirubine puisse être excrétée dans la bile. La conjugaison se fait principalement avec l'acide glucuronique grâce à une enzyme, la bilirubine-glucuronosyltransférase.

Excrétion dans la bile

La plus grande partie de la bilirubine est excrétée dans la bile sous forme conjuguée. Le transport de la bilirubine de l'hépatocyte vers la bile à travers la membrane canaliculaire se fait grâce à un transporteur le MRP2 [31].

Cycle entéro-hépatique

La bilirubine introduite dans le tractus intestinal via la bile est réduite par les bactéries en urobilinogène incolore, puis oxydée en urobiline colorée. La plus grande partie de l'urobilinogène est excrétée dans les selles, l'autre partie restante est absorbée par la circulation portale et retourne au foie sous forme de composés liés à l'albumine, puis est à nouveau excrétée dans la bile. La bilirubine participe ainsi à un « cycle entéro-hépatique ».

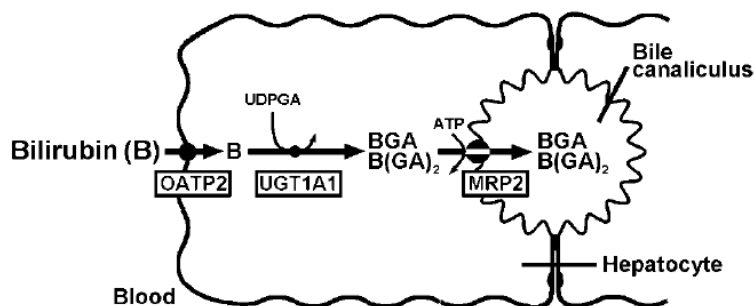


Figure 7: la captation de la bilirubine non conjuguée par l'hépatocyte et l'excrétion de la bilirubine conjuguée dans la bile.

La Figure 7 présente la captation de bilirubine non conjuguée par l'hépatocyte et l'excrétion de la bilirubine conjuguée dans la bile. La bilirubine non conjuguée (B) est captée par la membrane basale de l'hépatocyte par l'OATP2, puis conjuguée avec l'acide glucuronique (GA) grâce à l'UGT1A1 pour former la bilirubine monoglucuronide (BGA) et diglucuronide B(GA)₂. L'excrétion de la BGA ou de la B(GA)₂ dans la bile est médiée par un transporteur ATP-dépendant le MRP2.

LE METABOLISME DE LA BILIRUBINE CHEZ LE FŒTUS

Productions

Comme chez l'adulte, la bilirubine est formée dans l'organisme fœtal après des réactions d'oxydations et de réductions au terme du catabolisme de l'hème. L'hémoglobine est la principale source mais on retrouve aussi d'autres hémoprotéines (la myoglobine, les cytochromes et les catalases)[32].

La durée de vie des globules rouges chez le nouveau-né est estimée entre 45 et 90 jours[33] [34]. La durée de vie des globules rouges chez le fœtus

n'est pas déterminée, mais les données chez le prématuré nous suggèrent qu'elle serait de 35 à 50 jours [33][34].

L'hème oxygénase qui transforme l'hème en biliverdine a une activité significative dans le foie, la rate et le tissu érythropoïétique du fœtus. Chez le fœtus, dans les microsomes hépatiques, l'activité de l'hème oxygénase a été mesurée 8 fois plus élevée que dans le foie adulte[35].

La bilirubine apparaît chez le fœtus sous différentes formes à 14 semaines de grossesse apparaît l'isomère IX α , 2 semaines plus tard l'isomère IX β apparaît dans la bile [36]. Vers 20 semaines de grossesse la bilirubine IX β constitue 6% de la bilirubine et la bilirubine IX α 87%[37]. A la 38^{ème} semaine la bilirubine IX β a remplacé la bilirubine IX α comme le principal isomère [36]. Chez l'adulte seul l'isomère IX β est présent.

Les concentrations sériques de bilirubine totale retrouvées dans la veine ombilicale chez le fœtus augmentent de 25 $\mu\text{mol/l}$ (1,5 mg/dl) à 20 semaines de grossesse jusqu'à 30 $\mu\text{mol/l}$ (1,8 mg/dl) à terme [38].

La production de bilirubine chez un nouveau-né à terme a été calculée à 8,5 mg/kg/j, ce qui est plus du double que chez l'adulte[39].

Chez le fœtus, la durée de vie des globules rouge est plus courte que chez l'adulte. Il y a donc une destruction de globules rouges plus importante et ainsi une plus forte production d'hème. Ceci entraîne une plus grande activité de l'hème oxygénase et donc une importante production de biliverdine puis une importante production de bilirubine.

Conjugaison :

L'activité de la glucuronosyltransférase dans le foie fœtal à 20-23 semaines de grossesse a été mesurée au tiers de l'activité mesurée chez

l'adulte par Odell[40]. Une autre équipe (Kawade et Onishi) [41] retrouve des taux très inférieurs avec une activité de 0,1% de l'activité mesurée chez adulte entre 16 et 32 semaines de grossesse et jusqu'à 1% de l'activité mesurée chez l'adulte à terme.

La bilirubine conjuguée apparaît dans la bile fœtale humaine vers 20 semaines de grossesse. C'est la bilirubine IX β glycosyl conjuguée qui apparaît en premier, puis 2 à 3 semaines plus tard la bilirubine IX α monoglucuronide [36]. Autour de 30 semaines de grossesse c'est la bilirubine IX α monoconjuguée, qui comprend la IX α glycosyl conjuguée, la IX α monoglucuronide et d'autres éléments monoconjugués non déterminés qui est prédominante dans la bile fœtale. A terme la bilirubine IX α monoglucuronide est le pigment principal[42].

Chez l'adulte ce n'est pas le même pigment qui est majoritaire puisque la bile adulte contient 80% de bilirubine IX α diglucuronide[43].Ceci nous indique que le métabolisme de la bilirubine est différent chez le fœtus de celui que l'on retrouve après la naissance.

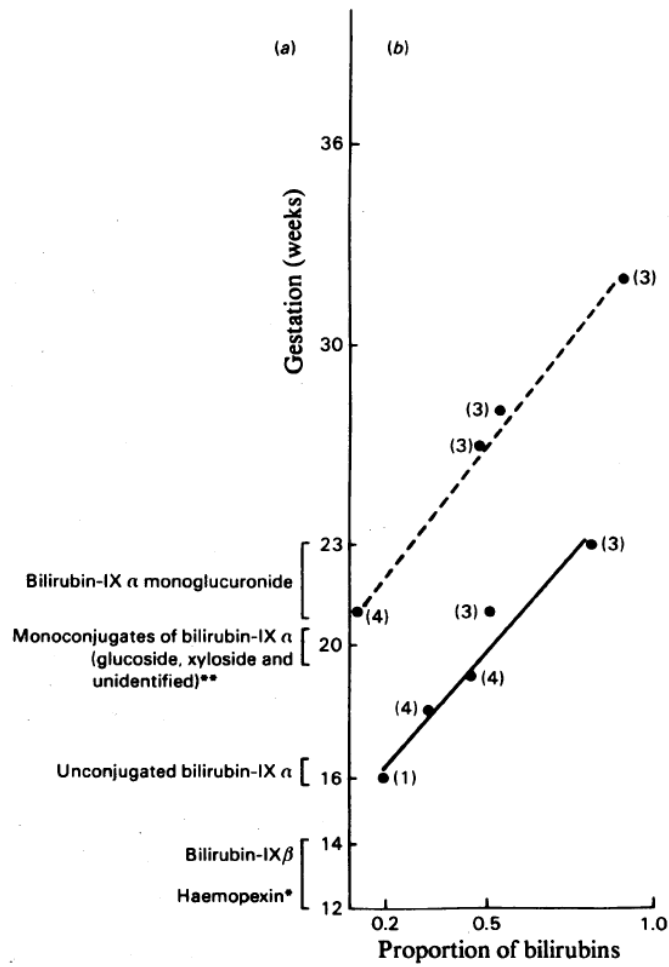


Figure 8 Développement de la Bilirubine dans la bile fœtale humaine

La Figure 8 présente la date d'apparition des différents types de bilirubine conjuguée (a) et les changements de rapport des différentes bilirubines durant le développement fœtal (b). Le trait plein représente la proportion de bilirubine IX α non conjuguée par rapport à la bilirubine non conjuguée IX α . Le trait pointillé représente la proportion de bilirubine IX α monoconjuguée par rapport à la bilirubine IX α non

conjuguée. Les chiffres entre parenthèse représentent le nombre de sujets chez qui on a étudié la bile[42].

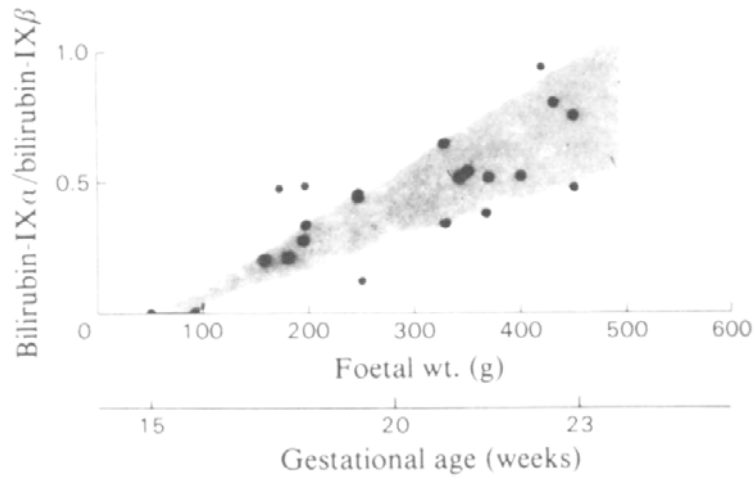


Figure 9:L'évolution du rapport bilirubine conjuguée /bilirubine non conjuguée durant la vie foetale.

La Figure 9 présente l'évolution du rapport bilirubine conjuguée/bilirubine non conjuguée durant la vie foetale dans la bile chez des fœtus humains et chez des nouveau-nés prématurés et à terme [42].

Il existe donc une activité de conjugaison chez le fœtus mais celle-ci est réduite, en effet la conjugaison et l'excrétion dans la bile foetale sont limitées aussi longtemps que le contenu digestif ne peut être évacué même si une quantité de bilirubine égale à 5-10 fois la production journalière a été retrouvée dans le méconium à la naissance [33][44].

Excrétion :

Pour Cornelius, il existe des similitudes concernant les structures placentaires et le métabolisme de la bilirubine entre les primates et les

humains. C'est pourquoi le singe Rhésus a été utilisé dans les études sur le transfert de la bilirubine à travers le placenta [45].

Bernstein a injecté de la bilirubine non conjuguée chez le fœtus singe Rhésus. Après 6 h d'injection de bilirubine non conjuguée radioactive, on note que 50% sont transférés à travers le placenta et excrétés dans la bile maternelle et 3 à 6 % sont retrouvés dans la bile fœtale[46].

La bilirubine non conjuguée fœtale passe à travers la barrière placentaire dans la circulation maternelle et est excrétée dans la bile maternelle [47].

Dans une autre étude de Bashore, la bilirubine non conjuguée radioactive a été injectée dans la circulation fœtale et maternelle. Il a été observé un transfert bidirectionnel. De plus il a été constaté que 5 minutes après l'injection, on ne retrouvait qu'une infime partie dans le liquide amniotique, ce qui indique qu'il n'y a pas de transfert via le liquide amniotique mais à travers le placenta [48], 30% de la bilirubine non conjuguée radioactive est retrouvée dans la bile maternelle après 3 ou 4 heures et moins de 1% est retrouvé dans la vésicule biliaire et le contenu intestinal.

Cependant quand il a été injecté de la bilirubine conjuguée chez le fœtus, moins de 3% de bilirubine radioactive étaient présents dans la bile maternelle.

Cette étude démontre que les composés hydrosolubles comme la bilirubine conjuguée ne passent pas la barrière placentaire[49].

Rosenthal a comparé les concentrations de bilirubine de l'artère ombilicale, de la veine ombilicale et du sang maternel. L'artère ombilicale contient des concentrations de bilirubine proche du double de

celles de la veine ombilicale. Ceci suggère que la bilirubine est épurée du sang fœtal lorsqu'il passe à travers le placenta. Le gradient trans-placentaire de la bilirubine du fœtus vers la mère est de 10:1 dans cette étude [50][33]. Monte et al. retrouvent un gradient de 5:1 [51].

Pour Hansen, il existe des variations importantes dans les études concernant la bilirubine fœtale entre les différentes espèces animales. Ceci implique une grande prudence en ce qui concerne l'extrapolation des données chez l'animal à l'homme. Ainsi le foie fœtal du chien et du mouton excrète environ 50% de la bilirubine radioactive injectée en bilirubine conjuguée, alors que le foie fœtal du singe excrète seulement 5% de la bilirubine radioactive injectée. On retrouve le même résultat que dans l'étude de Bernstein concernant le singe[46].

Chez le rat au 18ème jour de gestation, 80% de la bilirubine intestinale est non conjuguée alors qu'au 20ème jour la bilirubine conjuguée prédomine. Dans cette espèce il apparaît un rapide développement de la conjugaison dans les derniers jours de la vie fœtale[52].

La ligandine qui est responsable de la fixation de la bilirubine dans l'hépatocyte est une glutathion S transférase. L'activité de cette glutathion S transférase peut traduire l'activité de glucuroconjugaison de la bilirubine. En effet l'activité de la glutathion S transférase dans le foie fœtal de rat est inférieure à 5% des valeurs mesurées dans le foie adulte de rat au 16ème jour de grossesse et de 10% au 20ème jour de grossesse[50]. Or on a vu que chez le rat, il y avait un rapide développement de la conjugaison. Dans le foie fœtal du singe Rhésus on ne retrouve que des très bas taux de ligandine ce qui suggère que la conjugaison est faible.

Cela nous confirme qu'il y a une différence concernant le métabolisme de la bilirubine entre ces deux espèces.

Comme on l'a vu, pour Cornélius le singe Rhésus représente un bon modèle de l'homme concernant le métabolisme de la bilirubine. On peut donc penser que chez l'homme aussi la conjugaison de la bilirubine est très faible.

La formation de la bilirubine dans les maladies fœtales hémolytiques.

Une hémolyse chez le fœtus est possible notamment en cas d'allo-immunisation materno-fœtale. Dans cette situation, la concentration de bilirubine dans le sang fœtal peut augmenter de 25 $\mu\text{mol/l}$ (1,5 mg/dl) à 20 semaines de grossesse jusqu'à 70 $\mu\text{mol/l}$ (4,1 mg/dl) à 32 semaines de grossesse et avec une diminution concomitante de l'hémoglobine[38].

82% des enfants qui ont une concentration de bilirubine qui dépasse le 97ème percentile ont un hématokrite inférieur à 30 %. L'augmentation de la bilirubine se détecte avant l'anémie et une concentration sérique fœtale supérieure à 50 $\mu\text{mol/l}$ (3 mg/dl) est prédictive d'un risque élevé d'anémie sévère anténatale.

Chez les fœtus ayant présenté une anémie sévère anténatale nécessitant des transfusions intra-utérines répétées dans le cadre d'une allo-immunisation materno-fœtale, les concentrations sériques de bilirubine majoritairement non conjuguée sont mesurées autour de 95 $\mu\text{mol/l}$ (5,6 mg/dl) avec des extrêmes entre 22 et 185 $\mu\text{mol/l}$ (1,3-10,8 mg/dl) au moment de la 3ème transfusion[53].

Ainsi le placenta a une petite capacité à transférer la bilirubine, mais celle-ci est dépassée dans les maladies fœtales hémolytiques, c'est-à-dire lorsque la bilirubinémie fœtale est très élevée.

La bilirubine dans le liquide amniotique

Dans les conditions normales, le liquide amniotique à terme ne contient pas de concentration mesurable de bilirubine [54].

Pourtant dans une étude de Bashore [48], il a été injecté à des singes femelles enceintes d'abord en bolus puis en injection continue de 30 minutes, de la bilirubine non conjuguée radioactive. Les transferts de bilirubine apparaissent rapidement et dans les 2 directions : un rapide transfert est observé entre la circulation maternelle et le fœtus quand la concentration sérique de bilirubine maternelle est supérieure à 25,7 $\mu\text{mol/l}$ (1,5 mg/dl). Il y a également un rapide transfert de la bilirubine vers et depuis le liquide amniotique. La présence de bilirubine non conjuguée dans le liquide amniotique est surprenante. On peut penser que la bilirubine pénètre dans le liquide amniotique à partir de la circulation maternelle après son transfert initial du fœtus vers la mère à travers le placenta.

Transport et liaison

Liaison Bilirubine/Albumine

La bilirubine non conjuguée est transportée dans le plasma liée à l'albumine avec une affinité de 10^7 - 10^8M^{-1} au 1^{er} site de liaison[55].

Cependant il y a un deuxième site de liaison sur l'albumine auquel la bilirubine est liée avec une moindre affinité[56].

Grâce à la forte affinité de l'albumine pour la bilirubine, la concentration d'équilibre de la bilirubine non liée est nano moléculaire même en présence d'hyperbilirubinémie significative [57]. Cependant une fois que le 1er site de liaison est saturé quand les concentrations molaires dépassent celles de l'albumine, la concentration de bilirubine non liée augmente de manière importante[58].

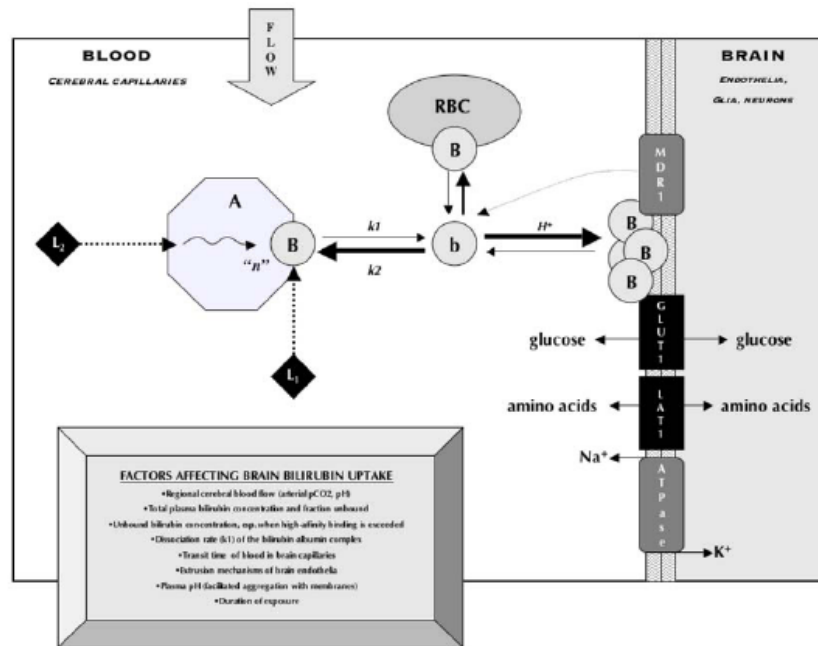


Figure 10: La bilirubine dans la circulation cérébrale.

La Figure 10 présente la bilirubine dans la circulation cérébrale et les facteurs impliqués dans la captation de la bilirubine par les neurones. La bilirubine (B) dans la circulation cérébrale est liée à l'albumine (A) et dans une moindre mesure aux globules rouges (RBC). La bilirubine non liée (b) est la fraction qui interagit avec la membrane cellulaire endothéliale[24].

Les facteurs qui interagissent avec la captation de la bilirubine par les neurones sont : le flux vasculaire cérébral, la concentration de bilirubine non conjuguée et concentration de bilirubine non liée, la constante d'équilibre du complexe albumine/bilirubine (k_1), le temps d'exposition à l'hyperbilirubinémie, le temps de perfusion des capillaires cérébraux et la perméabilité membranaire [24].

Plusieurs facteurs peuvent modifier la perméabilité de la membrane endothéliale comme le pH, l'osmolarité, la glycémie, la concentration en oxygène dans les capillaires cérébraux. Le mécanisme invoqué est une altération des propriétés des protéines membranaires comme les pompes Na/K (Na^+/K^+ ATPase), ou les transporteurs de glucose (GLUT1) ou d'acides aminés (LAT1)[24] [59].

Robinson a décrit en 1987 un modèle mathématique qui décrit quantitativement la captation de la bilirubine par les cellules neuronales à partir de la circulation. Ce modèle relie la captation de la bilirubine à la constante d'équilibre du complexe bilirubine/albumine et du temps de perfusion à travers les capillaires cérébraux[60].

La bilirubine non liée est présente à une concentration très faible (de 10 à 60 nmol/l) dans les sérums qui contiennent 100-300 $\mu\text{mol/l}$ de bilirubine totale. Néanmoins la bilirubine non liée peut pénétrer certains tissus. In vitro lorsque les érythrocytes sont mis en contact avec la bilirubine liée à l'albumine, une partie de la bilirubine se détache de l'albumine et se lie aux érythrocytes. L'équilibre est obtenu en 5 minutes[61]. La captation et les lésions toxiques dans les neurones ne sont observées qu'après une exposition plus longue. De plus dans les études in vitro, quasiment toute la bilirubine liée aux érythrocytes peut être détachée en ajoutant de

l'albumine, alors que la liaison de la bilirubine aux tissus est seulement partiellement réversible par exemple avec des échanges transfusionnels[59].

Rapport molaire

In vitro, les études montrent une corrélation entre la concentration de bilirubine libre et le rapport molaire bilirubine/albumine. Lorsque le rapport bilirubine/albumine dépasse 0,7, on observe une légère augmentation de la bilirubinémie non liée et une très brutale augmentation de la bilirubinémie non liée lorsqu'il dépasse 1 [25].

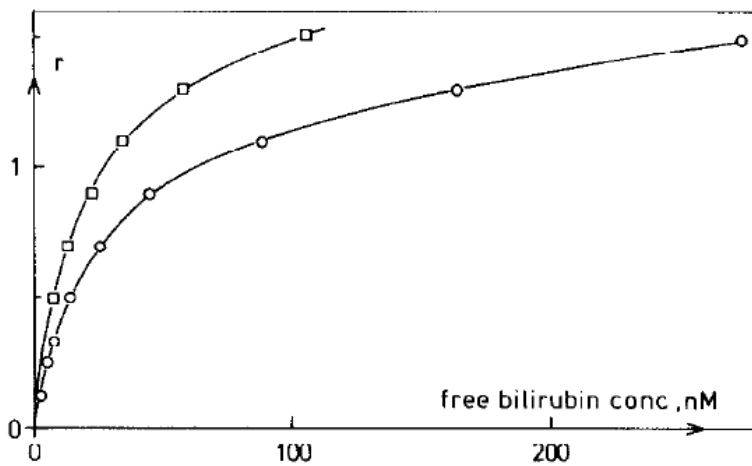


Figure 11 Concentration de la bilirubine non liée en fonction du rapport molaire bilirubine /albumine.

La Figure 11 représente la corrélation entre la concentration de la bilirubine non liée et le rapport molaire bilirubine/albumine(r) [25].

Dans l'étude de Strauss de 2005 qui décrit la prise en charge de 20 patients atteints de maladie de Crigler-Najjar (19 CN1 et 1 CN2) de 1989

à 2005, les rapports molaires les plus élevés ont été retrouvés lors des épisodes de décompensation de cette pathologie. Aucun de ces patients n'a présenté d'ictère nucléaire. Dans la littérature, ils ont retrouvé 11 cas d'ictère nucléaire chez des patients avec un CN de type 1 pour lesquels était rapportées la concentration de bilirubine et la concentration d'albumine. Le rapport molaire était plus élevé chez les patients qui ont développé un ictère nucléaire : $1,37 \pm 0,04$ dans les cas rapportés de la revue de la littérature vs. $0,76 \pm 0,07$ chez les patients de Strauss[24].

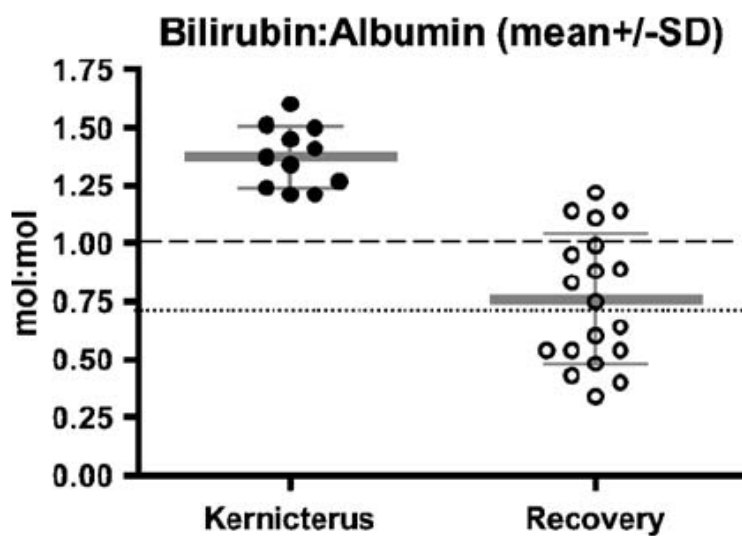


Figure 12. Ictère nucléaire et rapport molaire

Sur la Figure 12, les cercles noirs représentent les patients issus de la littérature, ils ont développé un ictère nucléaire avec des rapports molaires de $1,37 \pm 0,04$ et les cercles blancs représentent les patients de la cohorte de Strauss qui n'ont pas présenté de complications neurologiques, avec des rapports molaires de $0,76 \pm 0,07$ [24].

Dans une étude sur les rats Gunn, Labrune et al.[62] ont étudié la corrélation entre les concentrations de bilirubine et le risque d'encéphalopathie bilirubinique. 3 groupes de rats Gunn ont été étudiés ; les auteurs ont injecté de la bilirubine seule aux rats du 1^{er} groupe, de la bilirubine et de l'albumine simultanément aux rats du 2^{ème} groupe. Aux rats du 3^{ème} groupe, il a été injecté d'abord de la bilirubine seule pendant 30 minutes puis de la bilirubine et de l'albumine pendant les 10 minutes suivantes.

Résultats du 1^{er} groupe (injection de bilirubine seule) : la concentration de bilirubine non liée dans le sang (UB) et dans le cerveau (BB) augmente lorsque la concentration de bilirubine totale dans le sang (BRT) atteint 700-790 $\mu\text{mol/l}$. La capacité de liaison de la bilirubine non conjuguée à l'albumine dans le sang (BRC) est de 100% pendant toute l'expérience : les sites de liaisons de l'albumine pour la bilirubine sont saturés.

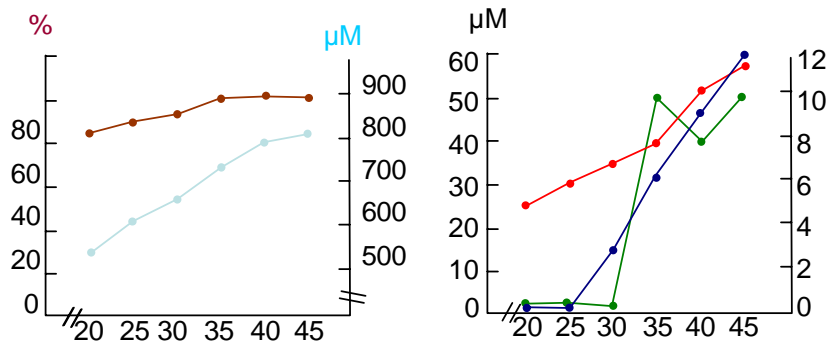


Figure 13. Résultats du premier groupe

Résultats du 2^{ième} groupe (injection de bilirubine et d'albumine) : les concentrations de bilirubine non liée dans le sang (UB) et dans le cerveau (BB) restent indétectables malgré des concentrations élevées de bilirubine totale dans le sang (BRT) 800-900 $\mu\text{mol/l}$. La capacité de liaison de la bilirubine à l'albumine dans le sang (BRC) reste au dessous de 50% pendant toute l'expérience.

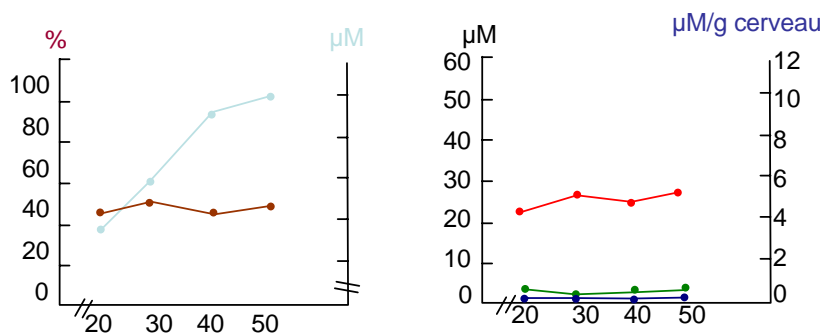


Figure 14. Résultats du deuxième groupe

Résultats du 3^{ème} groupe (injection de bilirubine seule, puis de bilirubine et d'albumine) : l'injection d'albumine et de bilirubine à partir de la 30^{ème} minute provoque une augmentation brusque de la concentration de bilirubine totale dans le sang (BRT) et une diminution progressive de la capacité de liaison de la bilirubine à l'albumine dans le sang (BRC). La concentration de bilirubine non liée dans le sang (UB) et dans le cerveau (BB) reste indétectable durant l'expérience.

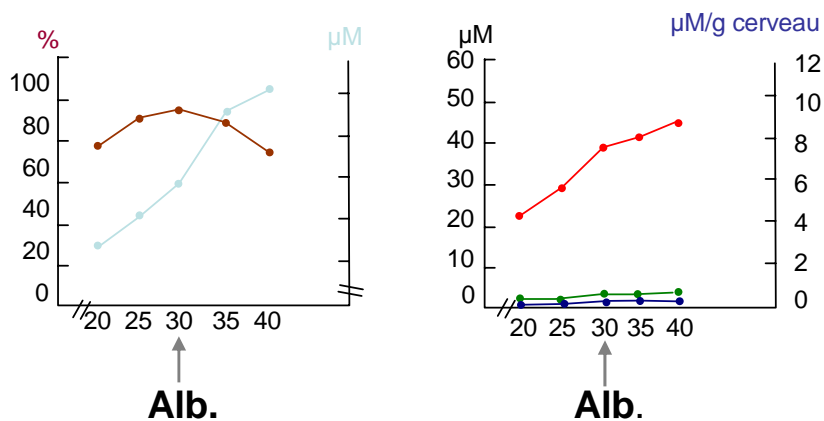


Figure 15. Résultats du troisième groupe

L'injection de bilirubine dans les trois groupes de rats a provoqué une augmentation progressive de la bilirubine totale dans le sang de 500-600 $\mu\text{mol/l}$ à la 20^{ème} minute jusqu'à 800-900 $\mu\text{mol/l}$ à la 40^{ème} minute. La brusque augmentation de la bilirubine totale dans le sérum juste après l'injection d'albumine peut refléter un mouvement de la bilirubine du secteur extra vasculaire vers le secteur intra vasculaire.

Dans le groupe de rats auquel a été injecté de la bilirubine seule, la concentration de bilirubine non liée augmente très brusquement dans le sang à partir de la 30^{ème} minute (0 $\mu\text{mol/l}$ à la 30^{ème} minute, 10 $\mu\text{mol/l}$ à la 35^{ème} minute) et progressivement dans le cerveau à partir de la 25^{ème} minute (3 $\mu\text{mol/l}$ à la 30^{ème} minute, 6 $\mu\text{mol/l}$ à la 35^{ème} minute). Alors que dans les groupes 2 et 3 (rats auxquels ont été injectées simultanément de la bilirubine et de l'albumine), la concentration de bilirubine non liée dans le cerveau et dans le sang est restée indétectable. Cette expérience confirme que seule la bilirubine non liée pénètre dans le cerveau lorsque la capacité de liaison de la bilirubine à l'albumine est dépassée c'est-à-dire

que les sites de liaison sont saturés. L'injection d'albumine peut prévenir cette pénétration dans le cerveau en augmentant la capacité de liaison de la bilirubine en offrant plus de sites de liaison à la bilirubine.

Ictère nucléaire

La bilirubine peut provoquer des encéphalopathies réversibles ou irréversibles qui s'accompagnent de lésions spécifiques des noyaux gris centraux avec une coloration jaune de ceux-ci qui traduit le dépôt de la bilirubine. Les concentrations toxiques de bilirubine pour le cerveau sont habituellement observées chez les nouveau-nés où chez les patients atteints de maladie de Crigler-Najjar à tout moment de la vie au décours des décompensations. Ces concentrations neurotoxiques sont variables en fonction de la vulnérabilité du cerveau aux effets neurotoxiques de la bilirubine.

L'acidose, l'hyperglycémie et la prématurité sont des facteurs qui augmentent le risque d'ictère nucléaire. Lorsque la concentration de bilirubine intracérébrale atteint des valeurs toxiques, les enfants deviennent irritables ou hypertoniques, ont une succion qui devient faible et un pleur anormal. Si l'encéphalopathie s'installe, les signes neurologiques s'aggravent avec une hypertonie, un cri aigu, des apnées centrales, de la fièvre et des convulsions. Si le patient survit, les symptômes diminuent transitoirement et il apparaît ensuite une paralysie extrapyramidale, une surdité, un retard mental, une dysplasie dentaire[59].

La physiopathologie de l'encéphalopathie bilirubinique est multifactorielle, impliquant le transport du complexe bilirubine/albumine à travers la barrière hémato-méningée et le dépôt du

pigment dans les neurones. L'importance relative de la barrière hémato-méningée, les concentrations de bilirubine non conjuguée, la liaison bilirubine/albumine dans le sérum et la vulnérabilité de certains tissus sont imparfaitement connues. Lorsque les concentrations de bilirubine sont très élevées, si la barrière hémato-méningée est intacte la bilirubine passe lentement à travers elle et l'encéphalopathie s'installe alors progressivement. Cependant le dépôt des pigments peut s'accélérer si les concentrations de bilirubine non liée augmentent rapidement, notamment en présence de compétiteurs de la bilirubine pour sa liaison avec l'albumine ou si la perméabilité membranaire est augmentée par exemple en présence d'acidose, d'hyperosmolarité, d'hypo ou d'hyperglycémie ou d'hypercapnie [24] [59].

L'équipe de Strauss[24] utilise un protocole pour prévenir l'ictère nucléaire au moment des décompensations. Il permet de contenir l'augmentation de la bilirubinémie lors des poussées comme les hyperbilirubinémies néonatales, les infections ou les urgences chirurgicales. Ce protocole associe une photothérapie intensive 24h/24, des perfusions d'albumine (1-2 mg/kg/dose) afin de maintenir un rapport molaire bilirubine/albumine inférieur à 0,7 chez les adultes et inférieur à 0,5 chez les nouveau-nés.

Par ailleurs ils évitent l'administration de médicaments qui peuvent influencer sur la liaison bilirubine/albumine comme certains anti-inflammatoires comme l'aspirine, ou certains antibiotiques comme la pénicilline V ou certaines céphalosporines de 3ème génération dont la ceftriaxone.

Certaines données suggèrent que la lysine est impliquée dans la liaison de la bilirubine avec l'albumine et dans celle de la bilirubine avec la ligandine[63]. D'autres données suggèrent que la lysine joue un rôle dans la médiation ou la modulation de la neurotoxicité de la bilirubine[64].

METABOLISME DE LA BILIRUBINE CHEZ LE NOUVEAU-NE

La production de bilirubine chez un nouveau-né à terme a été calculée à 8,5 mg/kg/j, ce qui est plus du double que chez l'adulte[39].

Lorsque le complexe bilirubine/albumine passe à travers la circulation hépatique et vient au contact des hépatocytes, seule la bilirubine est transportée à l'intérieur de la cellule. Ce processus se fait grâce à l'intervention d'un transporteur dont on ne connaît pas encore la nature[29]. Comme on l'a déjà vu la principale protéine de liaison intracellulaire pour la bilirubine est la ligandine. La captation de la bilirubine dans l'hépatocyte semble augmenter avec l'augmentation de la concentration de ligandine[65]. Or le nouveau né a une insuffisance en ligandine[33]. La concentration de ligandine dans l'hépatocyte peut augmenter sous l'effet d'agents pharmaceutiques tels que le phénobarbital[65]. Il a été vérifié que l'administration de phénobarbital à une femme enceinte augmente la conjugaison chez le nouveau né[66].

Normalement l'activité de la glucuronosyltransférase se développe de manière rapide après la naissance[41]. L'activité de la glucuronosyltransférase augmente 100 fois après la naissance et atteint les valeurs adultes après 4 à 8 semaines [41], les 2 isomères monoconjugués apparaissent dans le sérum les 1er et 2ème jours de vie chez le prématuré et l'enfant à terme, puis l'isomère diconjugué apparaît au 3ème jour de

vie[67] [41]. Dans les premiers jours de vie, la bilirubine conjuguée est de 2% de la bilirubine totale (alors qu'elle est de 3,6% chez l'adulte.) Cependant avec les concentrations sériques élevées de bilirubine totale que l'on observe chez le nouveau-né, la concentration de bilirubine conjuguée est 2 à 6 fois plus élevée que chez l'adulte [52]. La bilirubine diglucuronide constitue seulement 20% de la bilirubine totale chez le fœtus alors que chez l'adulte elle représente au moins 54%[52]. Dans l'hépatocyte la bilirubine monoglucuronide ou diglucuronide est liée à la ligandine. L'activité de la glucuronosyltransférase augmente aussi avec l'administration d'analogues thyroïdiens [68], de dexaméthasone [69] ou de clofibrate [70].

L'excrétion de la bilirubine conjuguée dans la bile a lieu contre un gradient de concentration et nécessite donc un transport actif. Après une semaine de vie, la clairance de la bilirubine dans l'hépatocyte est maximum, c'est-à-dire que la capacité du foie à épurer la bilirubine est dépassée. L'excrétion devient l'étape limitante. L'excrétion de la bilirubine dans la bile peut augmenter avec l'administration de drogues qui accélèrent le flux biliaire tels que les barbituriques[44].

Le métabolisme de la bilirubine durant la vie fœtale est différent de celui qui existe à la naissance et chez l'adulte. Chez le fœtus, la conjugaison et l'excrétion de la bilirubine sont très limitées. Après la naissance dans les premiers jours de vie la conjugaison est l'étape limitante principale du métabolisme. Dans les jours suivants la conjugaison se développe, c'est alors la captation hépatique et l'excrétion de la bilirubine qui sont limitées puis durant le reste de la vie c'est l'excrétion qui est l'étape limitante du métabolisme[33].

CONTOURNEMENT DU METABOLISME

L'organisme peut excréter directement l'hème dans la bile en utilisant des inhibiteurs de l'hème oxygénase tel que la méso- ou la protoporphyrine [71] [72]. Cependant l'excrétion directe de l'hème dans la bile provoque une perte de fer, alors que la conversion de l'hème en biliverdine permet de conserver cette ressource importante pour l'organisme.

La biliverdine peut aussi être excrétée directement dans la bile [73]. Chez le fœtus, la biliverdine ne passe pas la barrière placentaire contrairement à la bilirubine. La conversion de la biliverdine en bilirubine permet donc au fœtus d'excréter ce pigment dans la bile maternelle. Cependant on peut se demander pourquoi on continue après la naissance à produire un produit potentiellement neurotoxique alors que le processus pourrait s'arrêter à la biliverdine qui elle n'est pas toxique. Certaines découvertes récentes permettent de penser que la bilirubine est un antioxydant et protège contre les radicaux libres[74].

TOXICITE

Dans une étude expérimentale sur les rats Gunn en 1977, Yeary [75] a pratiqué une ligature du conduit biliaire chez des rates gestantes.

Dans le 1^{er} groupe, il a injecté de la bilirubine non conjuguée du 9 au 15^{ème} jour et le 2^{ème} groupe était le groupe contrôle.

Il a donc provoqué une hyperbilirubinémie non conjuguée dans le 1^{er} groupe avec une toxicité embryonnaire, alors que dans le 2^{ème} groupe il est observé une hyperbilirubinémie conjuguée et pas d'effet sur les fœtus survivants.

Ceci suggère que la bilirubine non conjuguée est toxique alors que les isomères hydrosolubles (la bilirubine conjuguée) ne le sont pas.

HYPERBILIRUBINEMIE CONJUGUEE

En 1974, Furhoff rapporte les résultats de 133 enfants nés de 58 jeunes femmes avec ictère cholestatique pendant la grossesse due à une hépatite ou à une cholestase [76]. Aucun de ces enfants n'a eu de séquelles neurologiques. Mais les bilirubinémies maternelles et celles des nouveau-nés ne sont pas précisées. Le suivi était limité à une interview de la maman qui décrivait son enfant en bonne santé. De plus il s'agit d'hyperbilirubinémie conjuguée, donc il y a très peu de passage vers le fœtus à travers le placenta.

En 1973, Lipsitz [77] rapporte l'observation clinique d'une grossesse avec une hyperbilirubinémie maternelle à 680 $\mu\text{mol/l}$ (40 mg/dl) apparue 3 semaines avant l'accouchement. Il s'agit d'une patiente de 22 ans drépanocytaire, qui à 32 semaines de grossesse a présenté un ictère et une anémie. Sa bilirubinémie totale est à 680 $\mu\text{mol/l}$ (40 mg/dl) avec une bilirubinémie non conjuguée de 300 $\mu\text{mol/l}$ (17,6 mg/dl) et de bilirubine conjuguée de 530 $\mu\text{mol/l}$ (31 mg/l) au maximum durant les semaines précédant l'accouchement. Le diagnostic retenu alors est soit une hépatite, soit une crise vaso-occlusive hépatique. L'accouchement survient à 35 semaines de grossesse avec un liquide méconial et après une rupture de la poche des eaux de 20 heures. C'est un garçon de 2,126g avec un APGAR de 6 et 8 à 1 et 5 minutes de vie. La concentration au cordon de bilirubine totale était de 180 $\mu\text{mol/l}$ (10,5 mg/dl) à 95% non conjuguée. A 12 heures de vie la concentration non conjuguée était de 360 $\mu\text{mol/l}$ (20,5 mg/l) et la capacité de liaison de la bilirubine par l'albumine de 44%. Cet enfant n'a pas présenté de symptômes d'encéphalopathie bilirubinique, mais a reçu 2 exsanguino-transfusions. Il est décédé d'une septicémie à E.coli à 46 heures de vie, l'autopsie pratiquée n'a pas révélé d'ictère nucléaire.

Waffarn [78] a décrit en 1982, un enfant né à 37 SA d'une mère atteinte d'une insuffisance hépatique qui avait le jour de la naissance une concentration de bilirubine totale de 500 μmol (29 mg/dl) avec une concentration de bilirubine non conjuguée de 220 μmol (13 mg/dl). Les concentrations au cordon de bilirubine totale étaient de 320 $\mu\text{mol/l}$ (19 mg/dl) et de bilirubine non conjuguée de 185 $\mu\text{mol/l}$ (11 mg/dl). A la naissance cet enfant était hypotonique, non réactif et avait des mouvements toniques du tronc et des extrémités, il a nécessité plusieurs

exsanguino-transfusions dans les premiers jours de vie. Le suivi de cet enfant est normal après 14 mois.

HYPERBILIRUBINEMIE MATERNELLE NON CONJUGUEE ET GROSSESSE

Dans la littérature on retrouve 5 grossesses avec une hyperbilirubinémie maternelle non conjuguée. Il s'agit de 5 grossesses avec une maladie de Crigler-Najjar dont 4 grossesses avec une maladie de Crigler-Najjar de type 2 et une grossesse avec une maladie de Crigler-Najjar de type 1.

En 1989, Cahill DJ [79] présente la première observation d'une grossesse associée à une maladie de Crigler-Najjar. Il s'agit d'une patiente de 22 ans atteinte d'un Crigler-Najjar de type 2. La patiente a reçu pendant la grossesse un traitement par phénobarbital (30 mg/j).

Les concentrations sériques de bilirubine durant la grossesse étaient de 107 $\mu\text{mol/l}$ (6,4 mg/dl) à 15 semaines de grossesse et de 104 $\mu\text{mol/l}$ (6,2 mg/dl) à terme. A la naissance la concentration chez le bébé était de 121 $\mu\text{mol/l}$ (7,3 mg/dl). Son état a nécessité de la photothérapie pendant 36 heures. Au 5^{ème} jour de vie, la concentration de bilirubine chez le bébé était de 75 $\mu\text{mol/l}$ (4,5 mg/dl) et à 6 semaines de vie, la concentration était de 5 $\mu\text{mol/l}$ (0,3 mg/dl).

Il n'y a pas d'indication sur le développement de cet enfant.

En 1991 Taylor [80] rapporte une observation d'une patiente atteinte d'un Crigler-Najjar de type 1 avec des concentrations de bilirubine à 400 $\mu\text{mol/l}$ en moyenne durant la grossesse.

Il n'y a pas eu de traitement particulier pendant la grossesse. Les échographies à 25, 30 et 36 semaines étaient normales.

La naissance a eu lieu par césarienne pour état de mal convulsif à 41 SA d'un garçon de 4130 g dont l'Apgar était de 8 puis 10 à 1 et 5 minute.

L'enfant était ictérique à la naissance avec une concentration de bilirubine plasmatique à 410 $\mu\text{mol/l}$ (24,6 mg/dl). La photothérapie a été instituée pendant 24 heures avec une bonne réponse thérapeutique.

L'évaluation neurologique initiale était normale mais à 9 mois, l'enfant présentait un retard dans la préhension des objets. Le scanner cérébral était normal. Cependant à 18 mois, l'enfant a développé une tétraplégie. Cependant le développement cognitif est resté normal. Etant donné la durée limitée de l'hyperbilirubinémie non conjuguée à la naissance, il semble possible que les séquelles neurologiques de cet enfant soient liées à l'exposition à l'hyperbilirubinémie in utero.

On peut s'interroger sur ce cas :

La patiente était-elle atteinte d'une maladie de Crigler-Najjar de type 1 ? Sachant que la patiente n'avait aucun traitement ni photothérapie ni phénobarbital, n'aurait-elle pas dû présenter un ictère nucléaire plus tôt dans sa vie ? Pourtant s'il s'agissait d'une maladie de Crigler-Najjar de type 2, les concentrations de bilirubine n'auraient-elles pas dû être moins élevées ?

En 1994 James F [81] rapporte le déroulement d'une grossesse chez une femme de 24 ans atteinte d'une maladie de Crigler-Najjar de type 2. La maman n'a reçu aucun traitement durant la grossesse. La concentration de bilirubine maternelle atteint un maximum de 140 $\mu\text{mol/l}$ (8,5 mg/l)

au 3^{ème} trimestre avec une concentration au cordon pour le bébé de 130 $\mu\text{mol/l}$ (7,6 mg/l). L'ictère de cet enfant a régressé sans traitement ni séquelle. La maman n'a reçu aucun traitement durant la grossesse.

L'enfant a présenté un développement normal.

En 2001, Takashi Ito [82] rapporte le cas d'une patiente atteinte de maladie de Crigler - Najjar de type 2 qui a eu 3 grossesses :

La première se déroule sans traitement avec des concentrations sériques de bilirubine libre chez la maman autour de 116 $\mu\text{mol/l}$ (7 mg/l), l'enfant est né à terme par césarienne pour mal rotation, il a présenté un bon développement neurologique mais à 18 mois est décédé d'un syndrome de Reye.

La seconde grossesse se déroule avec un traitement par photothérapie et phénobarbital. Les concentrations de bilirubine initiales sont de 157,7 $\mu\text{mol/l}$ (9,5 mg/dl). La patiente a bénéficié d'un traitement par photothérapie (8 lampes de 20 W pendant 56 heures durant la 9^{ème} et la 10^{ème} de grossesse), puis un traitement par phénobarbital 30 mg par jour a été introduit ce qui a permis de réduire les concentrations sériques de bilirubine entre 57 $\mu\text{mol/l}$ (3,2 mg/dl) et 113 $\mu\text{mol/l}$ (6,8 mg/dl) durant le reste de la grossesse. L'enfant est né à 36 semaines de grossesse par césarienne pour utérus cicatriciel, avec un APGAR de 9 puis 9 à 1 et à 5 minutes. L'enfant a présenté un développement normal.

La troisième grossesse s'est aussi déroulée avec un traitement par photothérapie et phénobarbital. La concentration sérique de bilirubine totale à 5 semaines de grossesse était de 240 $\mu\text{mol/l}$ (14,5 mg/dl) avec une concentration sérique de bilirubine conjuguée de 6,65 $\mu\text{mol/l}$ (0,4

mg/dl). La patiente a bénéficié d'un traitement par photothérapie pendant 10 heures, ce qui a réduit les concentrations sériques de bilirubine à 187,6 $\mu\text{mol/l}$ (11,3 mg/dl). Puis un traitement par phénobarbital a été introduit jusqu'au terme de la grossesse. Les bilirubinémies totales ont été maintenues entre 73 $\mu\text{mol/l}$ (4,4 mg/dl) et 103 $\mu\text{mol/l}$ (6,2 mg/dl) durant le reste de la grossesse. L'enfant est né par césarienne à 37 semaines de grossesse par césarienne, avec un Apgar de 9 puis 9 à 0, 1 et 5 minutes. La concentration de bilirubine totale au cordon était de 84,7 $\mu\text{mol/l}$ (5,1 mg/dl). L'enfant a présenté un développement normal.

En 2005 Holstein [83] rapporte le cas d'une patiente de 35 ans, primipare qui est adressée en gastro-entérologie à 10 semaines de grossesse pour un ictère non diagnostiqué. L'ictère a été remarqué en Inde à l'âge de 10 ans.

La concentration sérique de bilirubine totale est de 151 $\mu\text{mol/l}$ (8,9 mg/dl) avec une concentration sérique de bilirubine non conjuguée de 145 $\mu\text{mol/l}$ (8,6 mg/l). Il est évoqué le diagnostic de syndrome de Crigler-Najjar. Il est donc pratiqué une analyse de la séquence des 5 exons du gène UGT1A1 qui retrouve un allèle complexe avec 2 mutations héritées de ces 2 parents. La patiente est double homozygote pour une mutation sur l'exon 1 concernant l'acide aminé 71 avec la substitution d'une Glycine pour Arginine : G71R et une mutation sur l'exon 5 concernant l'acide aminée 486 avec la substitution d'une tyrosine pour une asparagine.

De plus chez le père allemand du bébé, la maladie de Gilbert a été recherchée en étudiant le promoteur du gène UGT1A1, il n'y avait pas d'insertion de TA dans la TATA Box.

Pour réduire la concentration sérique de bilirubine, il a d'abord été instauré un traitement par photothérapie pendant 48 heures au total durant la 10^{ème} et la 12^{ème} semaine de grossesse. La concentration de bilirubine est descendue à 100 μmol (6 mg/dl). Puis un traitement par phénobarbital a été introduit à 25 mg/jour à 100 mg/j. Ceci a permis de maintenir les concentrations sériques de bilirubine entre 70 $\mu\text{mol/l}$ et 88 $\mu\text{mol/l}$ durant le reste de la grossesse. La grossesse s'est déroulée normalement jusqu'à la fin. Les échographies réalisées durant la grossesse étaient normales. A 40 semaines, la patiente a donné naissance à un garçon de 3700g, avec un APGAR de 10 par césarienne en raison d'un bassin étroit. La concentration sérique de bilirubine non conjuguée chez le bébé à la naissance était de 97 $\mu\text{mol/l}$ (5,8 mg/dl) et est descendue spontanément sans traitement. A 5 mois, l'enfant avait un développement normal et des concentrations sériques de bilirubine normales.

COMPARAISON DES CAS DE LA LITTÉRATURE

CAS	CAHILL 1989	TAYLOR 1991	JAMES 1994	HOLSTEIN 2005	TAKASHI ITO 2001	TAKASHI ITO 2001	GAJDOS 2006
Crigler-Najjar	Crigler-Najjar type 2	Crigler-Najjar type 1??	Crigler-Najjar type 2	Crigler-Najjar type 2	Crigler-Najjar type 2	Crigler-Najjar type 2	Crigler-Najjar type 1
Parité	1 ^{ière} pare	5 ^{ème} pare	1 ^{ière} pare	1 ^{ière} pare	2 ^{ème} pare	3 ^{ème} pare	1 ^{ière} pare
Age de la mère	22	21	24	35	34	36	28
Echographie	Normale	Normale		Normale			Normale
Accouchement	Voie basse	Césarienne pour état de mal convulsif.		Césarienne pour bassin étroit	Césarienne pour uterus cicatriciel	Césarienne pour uterus cicatriciel	Césarienne pour stagnation de la dilatation
Terme	A terme	41 SA	A terme	40	36	37	40+3
Apgar		8/10	9/9	10/10	10/10	10/10	10/10
Poids	3,9kg	4,13	3,450	3,7	3,315	3,315	3,460
Traitement pendant la grossesse	Phénobarbita 1 30 mg/j	Pas de traitement	Pas de traitement	Photothérapie et phénobarbita 1 25 mg/j à 100 mg/j	Photothérapie et phénobarbita 1 30 mg/j	Photothérapie et phénobarbita 1 30 mg/j	Photothérapie et perfusion d'albumine 1g/kg bimensuelle
Concentration de Bilirubine de base	107 μ mol/l 6,4 mg/dl		132-315 μ mol/l 8-19 mg/dl	142 μ mol/l 8,6 mg/dl	166-199 μ mol/l 10-12 mg/dl	166-199 μ mol/l 10-12 mg/dl	
Concentration de bilirubine au 1 ^{er} trimestre		363 μ mol/l 21,8 mg/dl	141 μ mol/l 8,5 mg/dl	99,6 μ mol/l 6 mg/dl	123 μ mol/l 7,4 mg/dl	240 μ mol/l 14,5 mg/dl	400 μ mol/l 23,5 mg/dl
Concentration de bilirubine au 2 ^{ème} trimestre		378 μ mol/l 22,7 mg/dl	83 μ mol 5 mg/l	70 μ mol/l-86,32 μ mol/l 4,2 mg/dl-5,2 mg/dl	53-113 μ mol/l 3,2-6,8 mg/dl	83 μ mol/l 5 mg/dl	
Concentration de bilirubine au 3 ^{ème} trimestre		402 μ mol/l 24,12 mg/dl	<u>146 μmol/l</u> 8,8 mg/dl			<u>73-103 μmol/l</u> 4,4-6,2 mg/dl	<u>230-280 μmol/l</u> 13,5-16,5 mg/dl
Concentration de bilirubine à terme	<u>104 μmol/l</u> 6,25 mg/dl	<u>420 μmol/l</u> 25,3 mg/dl					
Concentration de bilirubine	<u>121 μmol/l</u> 7,26 mg/dl	<u>410 μmol/l</u> 24,6 mg/dl	<u>126 μmol/l</u> 7,6 mg/dl	<u>96,3 μmol/l</u> 5,8 mg/dl		<u>84,7 μmol/l</u> 5,1 mg/dl	<u>250 μmol/l</u> 14,7 mg/dl

chez le bébé à la naissance							
Traitement du bébé à la naissance	Photothérapie pendant 36 heures	Photothérapie pendant 24 heures	Pas de traitement	Pas de traitement	Pas de traitement	Pas de traitement	<i>Photothérapie pendant 24 heures</i>
Evolution	Examen normal à 6 semaines	Quadriplégie à 18 mois	Examen normal à 6 mois	Examen normal à 5 mois	Développement normal	Développement normal	Développement normal

Discussion et réflexion à partir du cas clinique

D'après les données de la littérature concernant le métabolisme foetal on sait qu'il y a une forte production de bilirubine chez le fœtus[38]. Même si la conjugaison apparaît autour de la 20ème semaine de grossesse[36], on sait qu'elle reste très limitée durant la grossesse[40]. On sait aussi que la bilirubine non conjuguée passe la barrière placentaire [47].

Dans le cas d'une grossesse chez une femme qui n'est pas ictérique, la bilirubine libre formée chez le fœtus est excrétée dans la bile maternelle[46].

En cas d'hyperbilirubinémie non conjuguée maternelle, il y a un passage bidirectionnel [48].

On a vu d'après les études expérimentales de Yeary [75] que l'hyperbilirubinémie non conjuguée maternelle est toxique pour le développement embryonnaire.

Les résultats des études précédentes qui retrouvaient l'existence d'un gradient de concentrations trans-placentaire entre le fœtus et sa mère sont différents des résultats de notre observation[50] [51]. En effet nous n'avons pas retrouvé de gradient trans-placentaire entre le fœtus et sa mère, ni entre l'artère ombilicale et la veine ombilicale. Dans les résultats issus de la littérature [79] [80] [81] [82] [83], en comparant les concentrations maternelles avant la naissance et les concentrations au cordon, on peut penser qu'en effet il n'y a pas de gradient.

Dans le cas rapporté par Taylor [80] en 1991, les concentrations sériques de bilirubine non conjuguée maternelle sont très élevées entre 363

$\mu\text{mol/l}$ (21,8 mg/dl) et 420 $\mu\text{mol/l}$ (25,3 mg/l). La concentration sérique de la bilirubine retrouvée chez le nouveau-né est équivalente à 410 $\mu\text{mol/l}$ (24,6 mg/dl), une photothérapie a été instaurée pendant 24 heures avec une régression de l'ictère. Il est expliqué que l'enfant est né par césarienne pour état de mal convulsif et il est dit que l'enfant a présenté un développement psychomoteur initial normal, mais à 9 mois, il présentait une difficulté de préhension des objets et à 18 mois, une tétraplégie. Ceci correspond à une sémiologie évocatrice d'un ictère nucléaire causé par l'exposition à l'hyperbilirubinémie maternelle pendant la grossesse.

Dans les 4 autres cas de la littérature[79], [81], [82], [83] que nous avons rapporté, les concentrations sériques de bilirubine sont beaucoup moins élevées, entre 53 $\mu\text{mol/l}$ (3 mg/dl) et 240 $\mu\text{mol/l}$ (14 mg/dl) et chez les nouveau-nés entre 84,7 $\mu\text{mol/l}$ (4,95 mg/dl) et 121 $\mu\text{mol/l}$ (7 mg/dl). Le développement neurologique de ces enfants a été rapporté comme normal, même si le suivi de ces enfants est relativement court (maximum 6 mois).

Il semblerait donc que la concentration de bilirubine maternelle soit un facteur important ; si cette concentration est très élevée, cela pourrait avoir un retentissement fœtal, alors que si cette concentration est relativement basse, il n'y aurait pas de retentissement.

Pour notre patiente atteinte de la maladie de Crigler-Najjar de type 1 qui avait des concentrations de base de bilirubine autour de 400 μmol (23,5 mg/dl), l'objectif durant cette grossesse a été de prévenir l'apparition d'un ictère nucléaire chez le fœtus en réduisant la concentration sérique de bilirubine.

C'est pourquoi la photothérapie a été intensifiée.

On sait aussi que seule la bilirubine non liée est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique et de pénétrer dans les neurones, et que des perfusions d'albumine limitent les concentrations de bilirubine non liée dans le sang et le cerveau [62].

Dans l'étude de Strauss[24], il est établi que pour éviter les complications neurologiques, le rapport molaire de la bilirubine/albumine doit être inférieur à 0,5 chez le nouveau-né et de 0,7 chez les adultes[25].

Aussi, pour notre patiente, l'objectif a été de maintenir ce rapport au moins en dessous de 0,6. Ce taux a été décidé en tenant compte des données de Strauss chez le nouveau-né (rapport molaire $< 0,5$) et en sachant qu'il y a très peu de données durant la grossesse sur la potentielle neurotoxicité de la bilirubine sur le fœtus. C'est pourquoi il a été pratiqué des perfusions d'albumine (1g/kg toutes les 2 semaines). Ce protocole a permis de maintenir ce rapport inférieur à 0,5.

Cette attitude a permis la naissance d'une petite fille en bonne santé, et qui présente à un an un développement psychomoteur normal.

C o n c l u s i o n

La maladie de Crigler-Najjar est une maladie génétique très rare et la grossesse chez une patiente atteinte de cette maladie est un événement exceptionnel.

Historiquement, il s'agissait d'une maladie qui se développait dans la période néonatale et se traduisait par des complications neurologiques qui conduisaient dans la majorité des cas au décès ou laissaient de lourdes séquelles neurologiques. Il y a donc peu d'adultes atteints de cette maladie et extrêmement peu de femmes en âge de procréer.

La prise en charge des patients atteints de cette affection a cependant beaucoup évolué, ce qui a permis dans la majorité des cas d'éviter les complications neurologiques inhérentes à l'hyperbilirubinémie non conjuguée de cette maladie.

La prise en charge d'une grossesse avec un CN représente un vrai défi thérapeutique compte-tenu de la potentielle neurotoxicité fœtale de l'hyperbilirubinémie maternelle, en sus du risque permanent d'encéphalopathie bilirubinique chez la mère.

Dans l'observation que nous avons présenté, une patiente atteinte de la maladie de Crigler-Najjar a pu mener à bien une grossesse et donner naissance à un bébé en bonne santé qui présente à 1 an un développement psychomoteur parfait grâce à une prise en charge qui a associé une photothérapie intensive et des perfusions d'albumine régulières.

Les découvertes récentes en thérapie génique qui ont abouti à une rémission à long terme de la maladie de Crigler-Najjar chez le rat représentent un espoir important pour tous les patients atteints de cette affection et on peut imaginer que ces découvertes puissent simplifier la prise en charge future d'une grossesse chez une patiente atteinte de cette maladie.

REFERENCES

-
- [1] Piter J, Bosma PD, Jayanta, Roy Chowdury MD and al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-Glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *New Eng J Med* 1995; 133 (18):1171-1175
- [2] Ulgenalp A, Duman N, Shaefer FV and al. Analyses of polymorphism for UGT1*1 exon 1 promoter in neonates with pathologic and prolonged jaundice. *Biol Neonate* 2003;83(4):258-262
- [3] Fretzayas A, Kitsiou S, Tsezou A, Alexaki A, Nicolaidou P. UGT1A1 promoter polymorphism as a predisposing factor of hyperbilirubinaemia in neonates with acute pyelonephritis. *Scan. J. Infect. Dis* 2006;38(6-7):537-40.
- [4] Hua L, Shi D, Bishop PR, Gosche J, May WL, Nowicki MJ. The role of UGT1A1*28 mutation in jaundiced infants with hypertrophies pyloric stenosis. *Pediatr. Res* 2005 Nov;58(5):881-4.
- [5] Facchini FP, Assis AM. Persistent neonatal hyperbilirubinémie resulting from Gilbert's syndrome in association with RhD hemolytic disease. *J Pediatr (Rio J)* 2005 Sept-Oct;81(5):421-4.
- [6] Crigler JF, Najjar VA. Congenital familial non-hemolytic jaundice with kernicterus. *Pediatrics* 1952;10:169-79
- [7] Arias IM, Gartner LM, Cohen M, Ezzer JB, Levi AJ. Chronic nonhemolytic unconjugated hyperbilirubinemia with glucuronyl transferase activity deficiency. *Am J Med* 1969;47:395-409.
- [8] Berk PD, Wolkoff AD, Berline NI. Inborn errors of bilirubin metabolism. *Med Clin North Am* 1975;59:803-16.
- [9] Labrune P. Maladie de Gilbert et maladie de Crigler-Najjar. *Hépatogastro .vol .3, n°2, mars-avril 1996 ;121-7*
- [10] Kakadol A, Sappal BS, Ghosh SS, Lowenheim M, Chowdhury A and al. Interaction of coding region mutations and the Gilbert type promoter abnormality of the UGT1A1 gene causes moderate degrees of unconjugated hyperbilirubinaemia and may lead to neonatal kernicterus. *J. Med. Genet* 2001 Apr;38(4):244-9.
- [11] Owens IS, Basu NK, Banerjee R. UDP-glucuronosyltransferases: gene structures of UGT1 and UGT2 families. *Methods Enzymol* 2005;400:1-22
- [12] Monaghan G, Ryan M, Seddon R, Hume R, Burchell B. Genetic variation in bilirubin UPD-glucuronosyltransferase gene promoter and Gilbert's syndrome. *Lancet* 1996 mar 2;347(9001):557-8.
- [13] Takeuchi K, Kobayashi Y, Tamaki S et al. Genetic polymorphisms of bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase gene in Japanese patients with Crigler-Najjar syndrome or Gilbert's syndrome as well as in healthy Japanese subjects. *J Gastroenterol. Hepatol.* 2004 sept;19(9):1023-8
- [14] Ferraris A, D'Amato G, Nobili V, et al. Combined test for UGT1A1 -3279T->G and A(TA)nTAA polymorphisms best predicts Gilbert's syndrome in Italian pediatric patients. *Genet Test.* 2006 summer;10(2):121-5
- [15] Sugatani J, Yamakawa K, Yoshinari K et al. Identification of a defect in the UGT1A1 gene promoter and its association with hyperbilirubinémie. *Biochem. Biophys. Res Commun* 2002 mar 29;292(2):492-7.
- [16] Yamamoto, K.; Soeda, Y.; Kamisako, T.; Hosaka, H.; Fukano, M.; Sato, H.; Fujiyama, Y.; Adachi, Y.; Satoh, Y.; Bamba, T. :Analysis of bilirubin uridine 5-prime-diphosphate (UDP)-glucuronosyltransferase gene mutations in seven patients with Crigler-Najjar syndrome type II. *J. Hum. Genet* 1998 ;43: 111-114

- [17] Petit F, Gajdos V, Capel L, Parisot F, Myara A, Francoual, Labrune P. Crigler-Najjar type II syndrome may result from several types and combinations of mutations in UGT1A1 gene: *Clin Genet* 2006;69:525-527
- [18] Servedio V, D'apolito M, Maiorano N, Minuti B, Torricelli F et al. Spectrum of UGT1A1 mutations in Crigler-Najjar(CN) syndrome patients identification of twelve novel alleles and genotype phenotype correlation. *Hum.Mutat* 2005 mar ;25(3) :325
- [19] Petit FM, Gajdos V, Francoual J, Capel L, Parisot F, Pous C, Labrune P. Allelic heterogeneity of Crigler-Najjar type I syndrome: a study of 24 cases; *Clin Genet* 2004;66:571-572
- [20] European Liver Transplant Registry.27/12/2005
- [21] Mentha G, Le Coultré C, Giostra E, belli D, Huber O et al. Results of a combined adult child liver transplantation in Switzerland. *Schweiz.Med.Wochenschr* 1999 Mar 20;129(11):433-40.
- [22] Sokal EM, Silva ES, Hermans D, Reding R et al. Orthotopic liver transplantation for Crigler-Najjar type I disease in six children. *Transplantation* 1995 nov 27;60(10):1095-8
- [23] Haddad E, McAlister VC, , Renouf E, Malthaner RA, Kjaer MS, Glud LL. Cyclosporin versus tacrolimus as primary immunisupressant after liver transplantation a meta-analysis. *Am.J.Transplant* 2006 jul;6(7):1578-85.
- [24] Strauss KA, Robinson DI, Vreman HK, Puffenberger EG, Hart G, Morton DH, Management of hyperbilirubinemia and prevention of kernicterus in 20 patients with Crigler-Najjar disease. *Eur J Pediatr* 2006 ;2:1-14
- [25] Brodersen R, Bilirubine.Solubility and interaction with albumin and phospholipid.*J biol chem* 1979 ;254 :2364-2369
- [26] Bellodi-Privato M, Aubert D, Pichard V, Myara A, Trivin F, Ferry N, Successful gene therapy of the Gunn rat by in vivo neonatal hepatic gene transfer using murine oncoretroviral vectors. *Hepatology* 2005 aug;42(2):431-8
- [27] Nguyen TH, Birraux J, Wilhaber B, Myara A, Trivin F, Le Coultré C, Trono D, Chardot C, Ex vivo lentivirus transduction and immediate transplantation of uncultured hepatocytes for treating hyperbilirubinemic Gunn rat. *Transplantation*. 2006 sept 27;82(6):794-803
- [28] Seppen J, Bakker C, De Jong B, Kunne C, Van den Oever K, Vandenberghe K, De Waart R, Twisk J, Bosma P, Adeno-associated virus vector serotypes mediate sustained correction of bilirubin UDP glucuronosyltransferase deficiency in rats. *Mol Ther*. 2006 Jun;13(6):1085-92. Epub 2006 Apr 3.
- [29] Cui Y, König J, Leier I, Buchholz U, Keppler D. Hepatic uptake of bilirubin and its conjugates by the human organic anion transporter SLC21A6. *J Biol Chem*. 2001 Mar 30;276(13):9626-30. Epub 2000 Dec 27.
- [30] Kamisako T, Kobayashi Y, Takeuchi K et al. Recent advances in bilirubin metabolism research :the molecular mechanism of hepatocyte bilirubin transport and its clinical relevance. *J Gastroenterol* 2000;35(9):659-64.
- [31] Keppler D, Leier I, Jedlitschky K. Transport of glutathione conjugates and glucuronides by the multidrug resistance proteins MRP1 and MRP2. *Biol Chem* 1997;378(8):787-91
- [32] Sieff CA and Nathan DG, The anatomy and physiology of hematopoiesis. In: Nathan DG. and Oski FA, eds.*Hematology of infancy and childhood*. Philadelphia: WB Saunders Company 1993,pp.156-215
- [33] Hansen TWR. Fetal and neonatal bilirubin metabolism. In: Maisels MJ, Watchko JF, eds.*Neonatal jaundice*. Amsterdam: hardwood Academic publishers,2000:3-20.
- [34] Oski FA, The erythrocyte and its disorders. In: Nathan DG and Oski FA, eds. *Hematology of infancy and childhood*. Philadelphia: WB saunders Company, 1993,pp.18-43

- [35] Abraham NG, Lin JH, Mitrione SM, Schwartzman ML, Lever RD and Shibahara S. Expression of heme oxygenase gene in rat and human liver, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1988;150:717-722
- [36] Blumenthal SG, Taggart DB, Rasmussen RD, Ikeda RM. and Ruebner BH, Conjugated and unconjugated bilirubins in humans and rhesus monkeys :structural identity of bilirubins from biles and meconiums of newborn humans and rhesus monkeys, *Biochem.J.*1979; 179:537-547
- [37] Yamaguchi T, Nakajima H. Changes in the composition of bilirubine-IX α isomers during human prenatal development. *Eur. J. Biochem.*1995;233:467-472.
- [38] Weiner CP, Human fetal bilirubin levels and fetal hemolytic disease, *Am.J.Obstet.Gynecol.* 1992;166:1449-1454
- [39] Maisels MJ, Pathak A, Nelson NM, Nathan DG and Smith CA, Endogenous production of carbon monoxide in normal and erythroblastotic newborn infants, *J.Clin.Invest.*1971;50:1-8
- [40] Odell GB, Neonatal jaundice.In:Popper, H.Schaffner,F.,eds.Progress in liver Disease, Volume 5.New York: Grune & Stratton, 1976, pp;457-475
- [41] Kawade N and Onishi S, The prenatal and postnatal development of UDP-glucuronyltransferase activity towards bilirubin and the effect of premature birth on the activity in the human liver, *Biochem.J.*1981;196:257-260
- [42] Blumenthal SG, Stucker T, Rasmussen,RD, Ikeda RM, Ruebner BH, Bergstrom DE, and Hanson FW, Changes in bilirubins in human prenatal development, *Biochem.J.*1980 ;186 :693-700
- [43] Fevery J, van de Vijver M, Michiels R, De Groote J and Heirwegh KPM, comparison in different species of biliary bilirubin-IX α conjugates with the activities of hepatic and renal bilirubin IX α uridine diphosphate glycosyl transferases, *Biochem.j.*1977;164:737-746
- [44] Gourley, GR and odell GB , Bilirubin metabolism in the fetus and neonat.IN:Lebenthal E,ed. Human gastrointestinal development.New York: raven Press, 1989,PP.581-621
- [45] Cornelius CE , The use of non human primates in the study of bilirubin metabolism and bile secretion.*Am.J.Perinat* 1982;2:343-354
- [46] Bernstein RB, Novy MJ, Piasecki GJ, Lester R, and Jackson BT :Bilirubin metabolism in the fetus.*J.Clin.Invest.*48 :1678-1688(1969)
- [47] Schanker LS:passage of drugs across body membranes.*Pharmacol.Rev* 1962;14:501-530
- [48] Bashore RA, Smith F, and Shanker S:placental transfer and disposition of bilirubin in the pregnant monkey.*Am.J.Obstet.Gynecol* 1969;103:950-958.
- [49] Cornelius CE. Bilirubin metabolism in fetus and neonate. In: Offprints from non human primates in perinatal research, eds Yves W Brans and Thomas J Kuehl.copyright© 1988 by John Wiley & Sons, Inc.
- [50] Rosenthal P, Human placental bilirubin metabolism, *Pediatr.Res.*1990;27:223A
- [51] Monte MJ, Rodriguez-bravo T, Macias RIR, bravo P,El-Mir MY, Serrano MA,Lopez-Salva A and Marin JJG, Relationship between bile acid transport gradients and transport across the fetal facing plasma membrane of the human trophoblast, *Pediatr. Res.*1995;38:156-163
- [52] Muraca M, Blanckaert N, Rubaltelli FF and Fevery J. Unconjugated and Conjugated bilirubin pigments during perinatal development.I.studies on rat serum and intestine. *Biol. Neonate.*1986;49:90-95
- [53] Goodrum LA, Saade GR, Belfort MA, Carpenter RJ and Moise KJ, the effect of intrauterine transfusion on fetal bilirubin in red cell alloimmunization, *Obstet.Gynecol.*1997;89:57-60
- [54] Mandelbaum B, Lacroix GCand Robinson AR, Determination of fetal maturity by spectrophotometric analysis of amniotic fluid, *Obstet.Gynecol.*1967;29:471-474
- [55] Brodersen R, binding of bilirubin to albumin, *Crit.Rev.Clin.Lab.Sci.*1980;11:305-399

- [56] Brodersen R, Knudsen A, and Pedersen AO, Cobinding of bilirubin and sulphonamide and of two bilirubin molecules to human serum albumin: a site model, *Arch;Biochem;Biophys.*1987;252:561-569.
- [57] Cashore WJ, free bilirubin concentrations and bilirubin-binding affinity in term and preterm infants, *J;Pediatr.*1980; 96:521-527
- [58] Jacobsen J and Wennberg RP, determination of unbound bilirubin in the serum of newborns. *Clin.Chem.*1974;20:783-789
- [59] Wennberg RP. The Blood-Brain Barrier and bilirubin encephalopathy. 2000. *Cell Mol Neurobiol* 20;97-109
- [60] Robinson PJ, Rapoport SI, Binding effect of albumin on uptake of bilirubine by brain. *Pediatrics* 1987;79:553-558
- [61] Wennberg RP. The importance of free bilirubin acid salt in bilirubin uptake by erythrocytes and mitochondria. *Pediatr. Res* 1988;23:443-447.
- [62] Labrune P, Myara A, Trivin F, Odievre M. Gunn rats: a reproducible experimental model to compare the different methods of measurement of bilirubin serum concentration and to evaluate the risk of bilirubin encephalopathy. *Clin Chim Acta.* 1990;192:29-34.
- [63] Jacobsen C. Lysine residue 240 of human serum albumin is involved in high affinity binding of bilirubin. *Biochem J.* 1978;171:453-459
- [64] Hansen TWR, Mathiesen SBW and Wallas SI. Modulation of the effect of bilirubin on protein phosphorylation by lysine-containing peptides. *Pediatr. Res.* 1997;42:615-617
- [65] Wolkhoff AW, Goresky CA, Sellin J, Gatmaitan Z and Arias I, role of ligandin in transfer of bilirubin from plasma to liver, *Am.J.physiol.*1979;236:E638-648
- [66] Rayburn W, Donn S, Piehl E and Compton A. Antenatal phenobarbital and bilirubin metabolism in the very low birth weight infant. *Am J.Obstet.Gynecol* 1988;159:1491-1493
- [67] Rosenthal P, Blanckaert N, Kabra PM and Thaler MM, Formation of bilirubin conjugates in human newborns. *Pediatr.Res* 1986;20:947-950
- [68] Neufeld ND, Corbo L, Brunnerman S and Melmed S. Stimulation of neonatal hepatic UDP-glucuronyl transferase activity with prenatal thyroid analog therapy. *Pediatr. Res* 1985;19:178A.
- [69] Leakey JEA, Althaus ZR, bailey JR and Slikker WJ. Dexamethasone increases UDP-glucuronyl transferase activity towards bilirubin, oestradiol and testosterone in foetal liver from rhesus monkey during late gestation. *Biochem J* 1985;225:183-188.
- [70] Lindebaum A, Hernandorena X, Vial M et al. Traitement curatif de l'ictère du nouveau-né à terme par le chlofibrate. *Arch.Fr. Pediatr* 1981 ;38 :867-873.
- [71] Simionatto CS, Anderson KE, Drummond GS and Kappas A. Studies on the mechanism of Sn-protoporphyrin suppression of hyperbilirubinémie. Inhibition of heme oxidation and bilirubin production. *J.Clin.Invest* 1985feb;75(2):513-21.
- [72] Kappas A, Drummond GS, Manola T, Petmezaki S and Valaes T. Sn-protoporphyrin use in the management of hyperbilirubinémie in term newborns with direct coombs-positive ABO incompatibility. *Pediatrics* 1988;81:485-497
- [73] Royer M, Rodriguez Garay E and Arguerich T. Action of biliverdin on biliary elimination of bilirubin and biliverdin in the rat. *Acta .Physiol. Latinoam* 1962;12:84-85
- [74] Stocker R, Yamamoto Y, Mcdonagh AF , Glazer AN and Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science.*1987;235:1043-1046
- [75] Yeary RA. Embryotoxicity of bilirubin. *Am. J. Obstet. Gynecol* 1977;127:497-498
- [76] Furhoff AK. Fate of children born to women with jaundice in pregnancy, *Arch.gynäk* 1974;217:165-172
- [77] Lipsitz PJ, Lawrence M, Flaxman MD, et al. Maternal hyperbilirubinemia and the new born. *Am.J.Dis.Child* 1973;126:525-527

-
- [78] Waffarn F, Carlisle S, Pena I, Hodgman JE, Bonham D, fetal exposure to maternal hyperbilirubinémie. *Am.J.Dis.Child* 1982;136:416-417
- [79] Cahill DJ, McCarthy CF, pregnancy and the Crigler-Najjar syndrome. *J Obstet.Gynaecol* 1989;9:213-218
- [80] Taylor WG, Walkinshaw SA, Farquharson RG, Fisker RA and Gilmore IT, pregnancy in crigler-najjar syndrome, case report, *Br.J Obstet.Gynaecol* 1991;98:1290-1291
- [81] James F, Smith JR, MD and Jay M, Baker MD, Crigler-Najjar in pregnancy, *Obstet.Gynecol.*1994 ;84 :670-671
- [82] Takashi Ito, Chieko Katagiri, Shinji Ikeno, Hiroyuki Takahashi, Naoki Nagata and Naoki terakawa, Phenobarbital following phototherapy for Crigler-Najjar syndrome type 2 with good fetal outcome: a case report. *J.Obstet.Gynaecol Res* 2001;27:33-35
- [83] Holstein andreas, Plaschke Armin, Lohse Peter & Egberts Eick-hartwig, Successful photo- and phenobarbital therapy during pregnancy in a woman with Crigler-Najjar syndrome type 2. *Scand J Gastroenterol* 2005;40:1124-1126.