



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR- KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Option: Génétique

Thème

**ETUDE BIOCHIMIQUE, GENETIQUE
ET EPIDEMIOLOGIQUE DE LA
PHENYLACETONURIE**

Présenté par: Nouar Sakina

Devant le jury:

Président : Dr. BOUFENNARA Souhil

(MCA-Université Abbes Laghrou-Khenchela)

Examineur : Dr.BENSAADA Mostefa

(MCB- Université Abbes Laghrou-Khenchela)

Promoteur: Dr.BOUAZZA Lyas

(MCB-Université Abbes Laghrou -Khenchela)

Année universitaire : 2017/2018

Remerciement

Je dédie ce modeste travail à tous les enfants phénylcétonuriques.

Merci Allah de m'avoir donnée la capacité, le courage et la patience de mener à terme ce travail.

La construction de ce mémoire n'aurait été possible sans l'intervention de certaines personnes. Qu'elles trouvent ici l'expression de mes plus sincères remerciements pour leurs précieux conseils.

Amon encadreur

★ Dr. Bouazza Lyas ★

Avant que je parle de lui en tant qu'encadreur, je dois parler de lui en tant que père pour nous tous et un formidable enseignant ; pour moi il était un enseignant très spécial c'est « my best teacher ». Depuis que je suis entré à l'université, je le vois comme un exemple de réussite et d'excellence, j'espère devenir comme lui, il m'a toujours aidée et a répondu à mes questions même si elles étaient bêtes...

J'ai essayé de suivre ses pas en choisissant la spécialité que j'aimais avant de le choisir à cause de lui, et je répète toujours; chaque matière enseignée par Mr Bouazza devient plus que magnifique, les meilleurs moments d'étude étaient ses séances, que j'ai toujours attendues; vous êtes toujours le meilleur professeur pour moi, et vous êtes l'enseignant qui mérite tous le respect et l'appréciation.

Vos qualités pédagogiques et humaines sont pour moi un modèle.

Votre gentillesse, et votre disponibilité permanente ont toujours suscité mon admiration.

Votre compétence, votre encadrement ont toujours suscité mon profond respect.

Veillez bien monsieur recevoir mes remerciements pour le grand honneur que vous m'avez faite d'accepter l'encadrement de ce travail.

Je vous remercie pour votre accueil et vos conseils.

Veillez-trouvez ici, l'expression de mes gratitudes et de ma grande estime.

*Je remercie sincèrement **Dr. Boufennara Souhil** d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Je remercie également le membre du jury **Dr. Bensaada Mostefa** qui m'a fait l'honneur de corriger ce travail.*

*Je tiens à remercier chaleureusement **Derardja Meriem** 'Responsable de la Pharmacie de l'hôpital CHU de Sétif et **Dr. Okka Kamilia** 'Maitre assistante en Pédiatre au niveau de l'hôpital Dajdji Bouatoura de Sétif' pour leurs encouragements scientifiques et morale.*

J'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et répondre à mes questions.

★ Sakina ★

Dédicace

A ma très chère grande mère

Qui m'a accompagnée par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.

A ceux qui m'ont donnée la vie: mes parents...

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

A mes très chers sœurs : Nouzha, Soraya et ma très chère cousine Noor

A mes frères: Rabie Adel et Mohamed Saber

Je dédie ce travail particulièrement à mon frère jumeau Mohamed qui était et reste toujours mon appui grâce à son aide et ses encouragements avec qui j'ai partagé les plus beaux moments.

Vous m'avez toujours soutenue durant mon étude, je vous souhaite une vie pleine de joie de bonheur et de réussite.

A mes oncles Ahmed Nouar et Ben Ouniss AbdelMalek et ma tante Essaada qui sont toujours présents par leurs merveilleuses excursions.

Aux oisillons de ma famille: Soundous et Bourhane, Salssabil, zaineb, Abdelghafour et la bougie de mes nuits Mohamed Amine.

A toute ma très chère famille sans exception.

A MES AMIES DE TOUJOURS: l'amie de l'enfance Narimen et Manel, Soumia, Nada, Imen, Rofaida, Warda.

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

A mes très chères amies Ni3ma, Bouthaina, Abir, Chahra, Tiba, Ibtissam, Hiba.

A mes amies: Amina, Yassmine, Khaoula merci pour le bon accueil quand je suis venue à Sétif.

A toute la promotion Génétique 2018



Sommaire

Page

Remerciements	
Dédicace	
Liste des figures	i
Liste des tableaux	ii
Liste des abréviations	vi
Résumé	vi
Introduction générale	vii
Première partie : Etude bibliographique	
Chapitre I : Etude biochimique	
I. Généralités	1
I-1 Découverte de la Phénylcétonurie	1
I-2 Définition	1
I-3- Métabolisme des acides aminés aromatiques	1
II-Métabolisme de la phénylalanine	2
II-1-Les origines de la phénylalanine	2
II-2 Métabolisme hépatique normal	2
II-1.1 Voie Majeur	3
II-1-1-1 La Phénylhydroxylase PAH	4
II-1-1-2 La Tétrahydrobiotine	4
II-1-2 Voie mineur	5
II-3 Métabolisme anormal de la phénylalanine	5
II-3-1 Anomalie de métabolisme des acides aminés PAH	5
II-3-2 Anomalie de la synthèse ou de la régénération du BH4	6
III-Déficit en phénylhydroxylase et métabolisme anormal	6
Chapitre II : Dépistage et aspects cliniques	
I-Dépistage biochimique	7
I-1-Différents types d'hyperphénylalaninémie	7
➤ Phénylcétonurie typique ou classique	7
➤ Phénylcétonurie atypique ou non classique	7
➤ Hyperphénylalaninémie modérée permanente (HPMP)	7
➤ Déficit du cofacteur ou PCU maligne	7
II-Conséquences pour l'organisme du catabolisme de la phénylalanine	8
II-1Hyperphénylalaninémie et toxicité cérébrale	8
II-2 Carence en tyrosine	8
➤ La tyrosine: précurseur des catécholamines	8

➤ La tyrosine : constituant la mélanine	8
➤ La tyrosine: précurseur d'hormones thyroïdiennes	9
II-3 Carence en tryptophane	9
III- Dépistage de la phénylcétonurie	10
III-1 Dépistage néonatal	10
III-2 Diagnostic différentiel	11
III-3 Diagnostic des adultes	11
VI-Aspects cliniques	12
VI-I Tableau clinique	12
VI-I-1 Evolution de la pathologie	12
IV-2 Troubles cognitifs et psychologiques	12
➤ Chez les enfants	12
➤ Chez les adultes	12

Chapitre III:Etude génétique

I-Epidémiologie	13
➤ Incidence	13
➤ prévalence	13
II-Le gène PAH	13
II-1 Techniques d'identification du gène PAH	13
II-2 Localisation du gène PAH	17
II-2-1 Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) dans le gène PAH	18
II-2-2 Nombre variable de répétitions en tandem dans le gène PAH (VNTR)	18
II-2-3 Répétitions courtes en tandem (STR) dans le gène PAH	19
II-3 Banque de gène	20
III- Mutations du gène PAH	20
III-1 Polymorphisme des allèles du gène PAH	22
➤ Polymorphismes de longueur de fragments de restriction bialléliques RFLP	22
➤ Polymorphismes multialléliques	22
➤ Polymorphisme d'un seul nucléotide SNP	23
III-2 Mutations dans la méthylation du promoteur	23
III-3 Mutation dans les séquences régulatrices	24
➤ la mutation R408W	24
III-4 Mutations dans les séquences codantes	24
➤ Dans l'exon 9	24
➤ Dans l'exon 12	25
III-5 Mutations dans l'ARNm	26
➤ Analyse de la transition GT →AT	26

III-6 Mutation dans les introns	27
➤ Analyse de la « délétion »	27
III-7 Mutations associées à la réponse à la tétrahydrobioptérine BH4	28
III-8 Mutation en Algérie	29
➤ Analyse par Southern	29
➤ Analyse de la « substitution » par PCR et l'hybridation	29
III-9 L'effet de mutations sur la fonction enzymatique	30
III-9-1 Faux-sens et les petites destructions d'acides aminés	30
➤ Mutations du site actif	30
➤ Les mutations de la structure de domaine	31
III-9-2 Mutations non-sens et mutations lors de l'épissage	32
➤ Avec les protéines des tronçatures et délétions importantes	32
➤ les mutations d'insertion or délétion introduisent « frame shifts »	32
IV- L'intérêt d'identification des mutations	33
V- Génétique de la transmission de PCU	33
VI - Conseil génétique	34

Deuxième partie : Matériels et méthodes

I- Introduction	35
II- Matériels	35
• HPLC	35
• LC-MS/MS	35
• IRM cérébral	35
• EEG	35
III- Méthodes	35
Famille I	35
1- PCU typique	35
• Histoire de la maladie	35
• Tableaux clinique de l'enfant malade 1	36
Famille II	36
2- Déficit en cofacteur BH4	36
• Histoire de la maladie	36
• Tableaux clinique de l'enfant malade 2	37

Troisième partie : Résultats et discussions

1- Epidémiologie	38
2- Etude biochimique et clinique	38
❖ Type de phénylcétonurie	38

Famille I	38
• Régime diététique	38
• La surveillance	38
Famille II	38
Prise en charge	39
• Traitement médicamenteux	39
❖ Corrélation Génotype/Phénotype	39
Imagerie par Resonance Magnétique (IRM)	40
✓ Effet de l'excès de la phénylalanine sur les matières blanches dans le cerveau	40
✓ Evolution de la pathologie à l'âge adulte	42
Electroencéphalographie (EEG)	44
✓ Anomalies de la substance grise	44
LC MS-MS	45
3- Etude génétique	46
3.1 Etablissement des arbres généalogiques	46
3.2 Transmission de la maladie et risque génétique	46
3.3. Le calcul de risque dans la population étudiée	47
4- Conseil génétique	48
Conclusion	

Références bibliographiques

Summary

Liste des figures

Numéro	Intitulé	Page
Figure 1	Métabolisme des acides aminés aromatiques	2
Figure 2	Métabolisme normal de la phénylalanine	3
Figure 3	Conversion de la phénylalanine en tyrosine	3
Figure 4	Structure et composition biochimique de la PhénylalanineHydroxylase	4
Figure 5	Synthèse et régénération de la tétrahydrobioptérine	5
Figure 6	Voie mineur du métabolisme de la phénylalanine	5
Figure 7	les déficits enzymatiques responsables d'hyperphénylalaninémie	6
Figure 8	Biosynthèse des catécholamines	8
Figure 9	Biosynthèse de la mélanine	9
Figure 10	Biosynthèse de la sérotonine et de la mélanine à partir de Trp	9
Figure 11	Le sang d'un nouveau-né est collecté sur un carton Guthrie	10
Figure 12	Diagramme de prise de décision utilisé par le laboratoire	11
Figure 13	Microcéphalie d'un bébé et adulte phénylcétonuriques	12
Figure 14	Chromosome de métaphase étalé après hybridation in situ avec phPAH247 marqué au 1251I, un ADNc de PAH de 2,5 kb clone dans pBR322	14
Figure 15	Histogrammes pour la distribution des grains d'argent auto radiographiques	15
Figure 16	Analyse en Northern blot de l'ARNm du gène de PAH	16
Figure 17	L'idéogramme du chromosome 12 représentant l'emplacement approximatif du gène <i>PAH</i> sur le bras long	18
Figure 18	Séquence pour l'unité répétée de 30 Pb dérivée du séquençage de 10 allèles VNTR différents	19
Figure 19	La séquence d'ADN de la région du gène <i>PAH</i> contenant le système STR	19
Figure 20	Résultats d'un alignement entre les séquences <i>PAH</i> humaines et murines	20
Figure 21	Types de mutations géniques et les fréquences relatives (%) du <i>PAH</i>	21
Figure 22	La carte du locus <i>PAH</i> indiquant les exons et deux autres marqueurs polymorphes couramment étudiés	23
Figure 23	Carte schématique du locus <i>PAH</i> indiquant les exons et les sites des polymorphismes RFLP, STR et VNTR	23
Figure 24	Les mutations affectant la séquence consensus d'épissage-donneur.	26

Figure 25	Représentation schématique des produits de l'excision-épissage normal ou aberrant (mutation GT - AT au site donneur d'épissage de l'intron 12) de l'ARN primitif du gène de <i>PAH</i>	27
Figure 26	Analyse du génotype de trois familles nucléaires phénylcétonuriques sans histoire de consanguinité par amplification de l'ADN (méthode PCR) et hybridation avec un couple de sondes oligonucléotidiques normale ou mutante, pour la mutation 280 ^{glu} → ^{lys}	30
Figure 27	Pourcentage des formes classiques de PCU selon la localisation des variations du gène de la <i>PAH</i>	33
Figure 28	Mode de transmission de la PCU	34
Figure 29	Cerveau d'un enfant normal et d'un phénylcétonurique par IRM	41
Figure 30	Effet de métabolisme anormal de la phénylalanine sur le cerveau	41
Figure 31	Conséquence de différentes concentrations de phe sur le cerveau d'un adulte phénylcétonurique	43
Figure 32	La substance grise du cerveau d'un adulte normal et d'un phénylcétonurique observée par électroencéphalographie	44
Figure 33	Dosage de la phénylalanine par LC MS-MS chez un nouveau-né normal et chez un phénylcétonurique	45

Liste des tableaux

Numéro	Intitulé	Page
Tableau I	Les différents phénotypes de la PCU en fonction de la concentration de la Phénylalanine	7
Tableau II	Prévalence de la PCU dans le monde	13
Tableau III	L'ADNc et les annotations de l'ADN génomique. Exon 13 ^a ADNc traduit et couvre uniquement les codons de terminaison	17
Tableau IV	Types et nombres de variations affectant le gène <i>PAH</i>	22
Tableau V	Types de mutations du gène <i>PAH</i> et leurs conséquences sur la protéine	25
Tableau VI	Mutations du gène <i>PAH</i> dans les introns et leurs conséquences	28
Tableau VII	Mutations dans l'ADNc et leurs effets sur l'acide aminé	31
Tableaux VIII	Tableaux clinique I de l'enfant malade 1	36
Tableaux IX	Tableaux clinique II de l'enfant malade 2	37
Tableaux X	Relation entre la concentration de la phénylalanine, diagnostic et type de mutation	40

Liste des abréviations

AA:	Acide aminé
AAN:	Acide Aminé Neutre
ADNc:	Acide désoxyribonucléique complémentaire
ADNg:	Acide désoxyribonucléique génomique
AFDPHE:	l'Association Française Pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant
ALAT:	Alanine Amino Transférase
AMM:	Autorisation de Mise sur le Marché
ARNm:	Acide ribonucléique messenger
ASAT:	Aspartate amino transférases
BH4:	Tétrahydrobioptérine
BHE:	Barrière hémato encéphalique
BLAST:	Basic Local Aligement Search Tool (data base)
CNAMTS:	Caisse National d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés
DHPR:	Dihydroptéridine Réductase
DNN:	Dépistage néonatal
L-DOPA:	L-3,4-Dihydroxyphénylalanine
EEG:	électroencéphalographique
FDA:	Food and Drug Administration
Fe⁺⁺:	fer ferreux
Fe⁺⁺⁺:	fer ferrique
gamma GT:	glutamyl-transpeptidases
GTPCH:	GTP-cyclohydrolase
GTP:	guanosine triphosphate
HAS:	Haute Autorité de Santé
HPA:	Hyperphénylalaninémie
HPAM:	Hyperphénylalaninémie modéré
HPAN:	Hyperphénylalaninémie néonatal
HPMP:	Hyperphénylalaninémie modérée permanente
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography
IMC:	Indice Masse Corporelle
IRM:	imagerie par résonance magnétique
Kb:	Kilo bases
Kd:	Kilo dalton
NADPH:	Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate Oxydase
NADP:	Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate
PAH:	Phénylalanine hydroxylases (enzyme)

PAH:	Phénylalanine hydroxylases (gène)
Pb:	Paire de bases
PCD:	Carbinolamie-4a-Deshydratase
PCR:	Polymerase chain reaction
PCU:	Phénylcétonurie
PHE	Phénylalanine
PTPS:	6-pyruvoyl-tétrahydroptérine synthétase
RFLP:	Restriction fragment length polymorphism
RMN:	résonance magnétique nucléaire
SNP:	Single Nucléotide Polymorphisme
SR:	sépiaptérine réductase
SNC:	Système Nerveux Central
SNP:	Système Nerveux Périphérique
STR:	Short tandem repeats
Trp:	Tryptophane
Tyr:	Tyrosine
μmol:	Micromole
VNTR:	Variable number of tandem repeats

Résumé

La phénylcétonurie (PCU) est la plus commune des anomalies innées du métabolisme, elle est caractérisée par un déficit mental léger à sévère chez les patients non traités.

En l'absence de diagnostic néonatal, les symptômes se développent en quelques mois et peuvent être de très légers à sévères. Ils incluent retard de développement graduel, retard de croissance, microcéphalie, convulsions, tremblements, eczémas, vomissements et odeur de moisi. Les patients non traités développent un déficit intellectuel, des troubles du comportement (hyperactivité) et de la motricité. Les patients ont souvent la peau et les cheveux clairs, résultat d'un déficit en tyrosine. La forme la plus fréquente est la PCU classique est caractérisée par des symptômes sévères. Une forme légère (PCU modérée), ainsi qu'une forme encore plus légère appelée hyperphénylalaninémie modérée (HPA modérée ou HPA non PCU). Certains patients aux phénotypes légers se sont avérés répondeurs à la tétrahydrobioptérine (BH4), le cofacteur de l'hydroxylation de la phénylalanine (HPA répondeur au BH4).

La PCU est généralement diagnostiquée lors de programmes de dépistage néonatal, doit être distinguée du déficit en BH4 par un diagnostic différentiel.

Sa transmission est autosomique récessive et un conseil génétique doit être proposé aux familles affectées, elle est causée par des mutations du gène *PAH* (12q22-q24.2) codant pour l'hydroxylase de la phénylalanine. Des mutations ne touchant pas le gène *PAH* ont été identifiées et causent une hyperphénylalaninémie due au déficit en BH4. L'accumulation de la phe toxique dans le sang et le cerveau sont les manifestations cliniques.

Notre étude consiste à faire une étude des dossiers médicaux des malades collectés à partir des archives du service de pédiatrie de l'hôpital de Sétif utilisant les résultats de différentes techniques biochimiques (HPLC, LC-MS/MS) et cliniques (IRM, EEG), parmi les vingt-trois cas trouvés nous avons choisis deux familles ayant une PCU typique et un déficit en BH4 pour présenter notre étude. Une corrélation génotype /phénotype a montré que la mutation 280 (glu → lys) est la plus trouvée dans la population Algérienne et en Afrique du Nord.

Mots clés: phénylcétonurie, phénylalanine, phénylalanine hydroxylase, cofacteur

Introduction générale

Les maladies métaboliques mono géniques héréditaires rares sont dues à une altération du code génétique (ou mutation de l'ADN), responsable d'une anomalie de synthèse ou de fonction de protéines ou enzymes importantes dans le métabolisme cellulaire. Les conséquences des maladies héréditaires du métabolisme impliquent souvent une atteinte d'un ou plusieurs organes (cerveau, cœur, rein, ..).

La phénylcétonurie est une maladie génétique métabolique de transmission autosomique récessive causée par l'incapacité du foie à produire un type particulier d'enzyme, la phénylalanine hydroxylase. Cette enzyme convertit (métabolise), la phénylalanine en un autre acide aminé, la tyrosine.

Un manque de cette enzyme se traduit par l'accumulation de concentrations anormalement élevées de phénylalanine dans le sang et le cerveau. Au-dessus des niveaux normaux de concentration la phénylalanine est toxique pour les cellules qui composent le système nerveux et provoque des anomalies irréversibles dans la structure du cerveau et de la fonction chez les patients atteints de PCU.

Plusieurs formes de PCU sont distinguées selon la concentration de phénylalanine dans le sang des patients.

Le traitement préconisé est surtout de type diététique permettant de conserver un taux de phénylalanine relativement faible, afin d'assurer un développement cérébral normal. Les aliments à éviter dans le cadre de ce régime sont les œufs, le poisson, la viande, les laitages, et produits céréaliers. Ce régime est complété par des aliments diététiques à base d'acides aminés pour éviter toute carence. Un traitement médicamenteux est également possible.

Notre étude s'est basée sur l'étude de données collectées à partir de dossiers médicaux se trouvant au niveau du service de pédiatrie de l'hôpital de Sétif. Deux familles sont choisies avec des enfants atteints. Ces données sont complétées par une enquête familiale, qui a montré que les parents d'une de ces familles sont des cousins.

Une étude épidémiologique a permis de voir la distribution des fréquences alléliques du gène de cette maladie dans la population à l'étude.

La corrélation génotype/phénotype montre quelques mutations responsables de cette hyperphénylalaninémie, dont la mutation 280^(glu → lys) est la plus fréquente dans la population Algérienne.

Première Partie

Etude Bibliographique

Chapitre I: Etude Biochimique

I. Généralités

I-1- Découverte de la Phénylcétonurie

La phénylcétonurie a été pour la première fois décrite en 1934 par Asborn Folling. Celui-ci a étudié le rapport entre l'odeur particulière de l'urine de deux frères et leur retard mental. Il a découvert que ces urines étaient riches en cétones, et plus particulièrement en acide phénylpyruvique.

Une investigation d'une cohorte plus large de sujets atteints de retard mental lui permit d'identifier huit autres patients présentant la même augmentation en acide phénylpyruvique dans leurs urines. Il publia ces données et suggéra le nom (*imbecillitasphenylpyruvica*) soulignant le déficit mental engendré. La dénomination phénylcétonurie (PCU) fut ensuite proposée en 1935 par Penrose. En 1953 Jervis caractérisa le déficit enzymatique sous-tendant la modification de la composition des urines. En 1957, le Docteur Willard Centerwall a développé le premier test de dépistage de la PCU. Il mit au point le « test de la couche »: du chlorure de fer est versé sur des couches mouillées et si l'urine devient verte, le test était positif. Ce mode de dépistage n'a pas été généralisé car les enfants testés devaient avoir quelques semaines pour que l'acide phénylpyruvique se retrouve en quantité décelable.

I-2- Définition

La phénylcétonurie est une maladie génétique récessive à transmission autosomique liée à la déficience de la phénylalanine-hydroxylase hépatique (**Perrin, 1996**). Enzyme permettant la transformation de la phénylalanine en tyrosine. Le déficit de cette enzyme entraîne une augmentation de la phénylalaninémie qui est responsable de la toxicité et de la symptomatologie caractérisée par des troubles neurologiques graves. La résultante de ces déficits est l'accumulation sanguine de la phénylalanine et l'apparition de ses dérivés notamment l'acide phénylpyruvique dans les urines. Cette hyperphénylalaninémie (HPA) entraîne de graves troubles neurologiques tels que des troubles du développement intellectuel, des troubles de l'attention et du comportement. Elle peut également engendrer des convulsions, une dépigmentation de la peau et des cheveux. De plus une odeur particulière de la peau et des urines dite « de souris » est commune aux phénylcétonuriques (**Abadie et al., 2005**).

I-3- Métabolisme des acides aminés aromatiques

La famille des acides aminés aromatiques hydroxylase comprend la PheOH (Phénylalanine hydroxylase), TyrOH (Tyrosine hydroxylase) et Trp OH (Tryptophane

Hydroxylase). TyrOH et TrpOH sont impliqués dans la biosynthèse des catécholamines et de la sérotonine, respectivement. Les trois hydroxylases contiennent des domaines catalytiques C-terminal très conservés, mais des domaines N-terminaux distincts. Toutes les TyrOH et TrpOH sont surtout des dimères, tétramère et des formes tétramériques de PheOH existent en équilibre (Kobe et al., 1999).

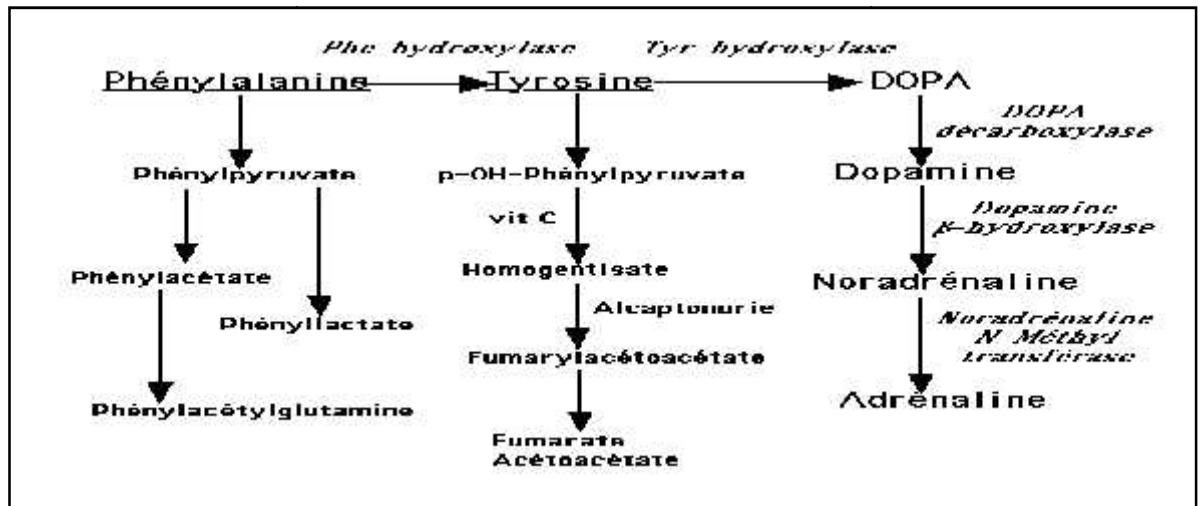


Figure 1: Métabolisme des acides aminés aromatiques

II- Métabolisme de la phénylalanine

II-1- Les origines de la phénylalanine

La Phe est un des trois acides aminés possédant une chaîne latérale aromatique avec la tyrosine et le tryptophane. C'est un acide aminé essentiel (ou indispensable), c'est-à-dire que l'organisme est incapable de le synthétiser. Il est donc apporté par l'alimentation.

La Phe sanguine a deux origines. Elle provient :

- de la dégradation des protéines alimentaires (origine exogène).
- de la dégradation des protéines du corps humain (origine endogène).

La Phe est indispensable à la synthèse des protéines du corps humain. L'excédent de phénylalanine ne peut être éliminé tel quel et doit être métabolisé au niveau du foie (Claude and Lyon, 2012).

II-2- Métabolisme hépatique normal

La phénylalanine est normalement convertie en tyrosine par l'enzyme phénylalanine hydroxylase. Cette réaction est catalysée par les cofacteurs de la tétrahydrobioptérine (BH4), O₂ et de fer. Le BH₄ réduit le NADP⁺ en NADPH.H⁺ Après l'oxydation en dihydroptérine, BH₄ régénère NADPH.

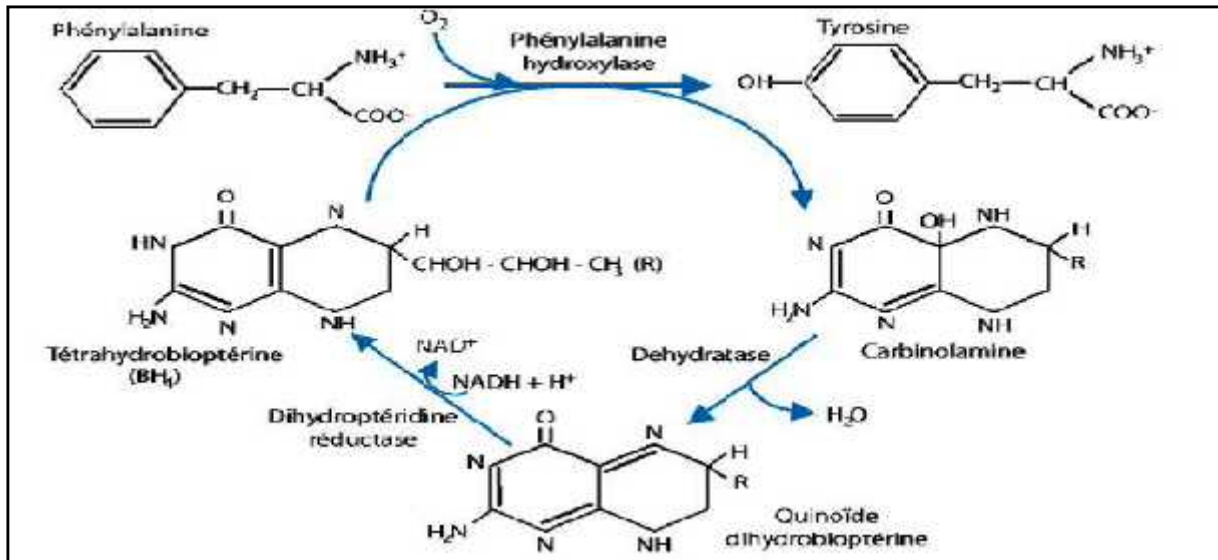


Figure 2: Métabolisme normal de la phénylalanine

II-1-1 Voie Majeur

La PAH nécessite la présence de son cofacteur la tétrahydrobioptérine (BH_4), ainsi que de l'oxygène moléculaire O_2 pour réaliser la réaction d'hydroxylation de la Phe en Tyr. La réaction oxyde le BH_4 en 4-hydroxytétrahydroptérine, qui est ensuite prise en charge par une 4-carbinolaminodéshydratase et la dihydropteridine réductase (DHPR) pour régénérer du BH_4 . Ainsi l'activité de l'enzyme PAH mais aussi la quantité disponible du cofacteur sont essentiels à l'hydroxylation de la Phe en Tyr.



Figure 3: Conversion de la phénylalanine en tyrosine

Il apparaît que quand la Phe et le BH_4 sont liés à l'enzyme, l'ion ferreux perd de l'eau ce qui permet la formation d'un centre de coordination permettant la génération d'un intermédiaire actif d' O_2 et l'hydroxylation couplée de la Phe et du BH_4 . Afin d'exercer pleinement son activité, quatre monomères PAH doivent s'associer. Cette association passe par l'interaction de leur partie C-terminale (résidus 414 à 420) qui présente deux

conformations hélicoïdales alignées tête-bêche (Bassan et al., 2003; Wasinger et al., 2002). Il a été démontré que les formes dimériques et tétramériques de l'enzyme sont physiologiquement présentes, la forme tétramérique ayant une activité cinq fois supérieure à la forme dimérique (Scriver et Kaufman, 2008).

II-1-1-1 la phénylhydroxylase (PAH)

Est une enzyme à expression restreinte au foie, de la famille hydroxylases (EC.1.14.16.1), spécifique des acides aminés aromatiques: mono-oxygénase qui utilise l'O₂ moléculaire. Cette enzyme utilise comme cofacteur le BH₄ lui-même, commun aux hydroxylases des trois acides aminés. Il existe sous plusieurs iso-enzymes différents, dimères, tétramères ou polymères de la même sous-unité de répétition. La masse moléculaire de chaque sous-unité est d'environ 50 Kda (Miranda et al., 2002).

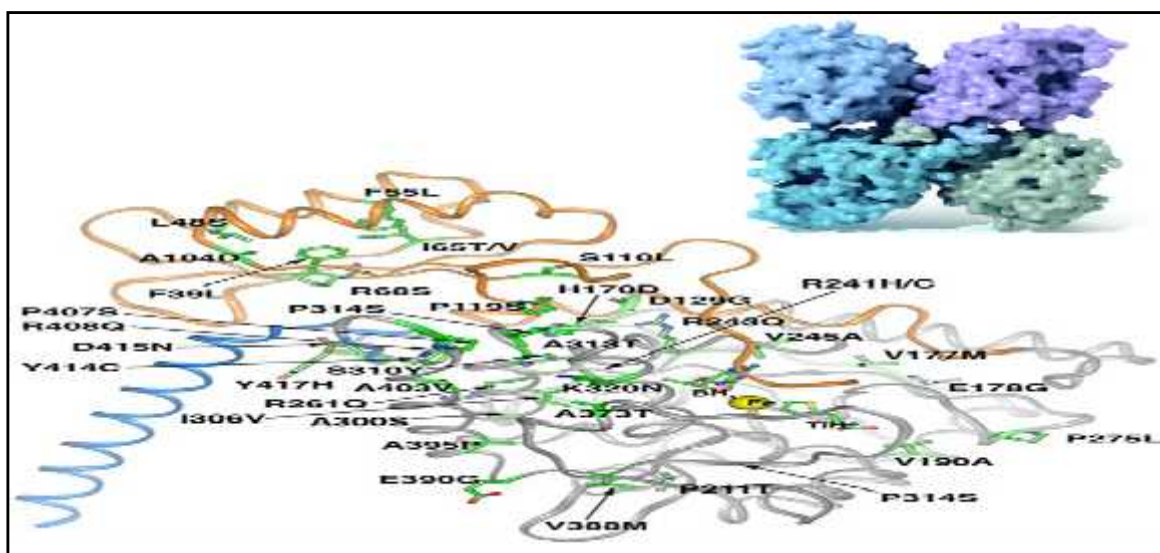


Figure 4: Structure et composition biochimique de la Phénylalanine Hydroxylase (Blau and Erlandsen, 2004)

II-1-1-2 la Tétrahydrobiotine

Le BH₄ est synthétisé à partir de guanosine triphosphate (GTP) en trois réactions chimiques faisant intervenir les enzymes GTP-cyclohydrolase-I (GTPCH), la 6-pyruvoyl-tétrahydroptérine synthétase (PTPS) et la sépiaptérine réductase (SR) mais la synthèse seule, reste insuffisante pour assurer une concentration adéquate de BH₄. Sa régénération est donc un aspect fondamental afin de maintenir le taux nécessaire. Le cycle se compose de deux étapes et met en jeu deux enzymes: la PCD et la DHPR (Camp, 2014).

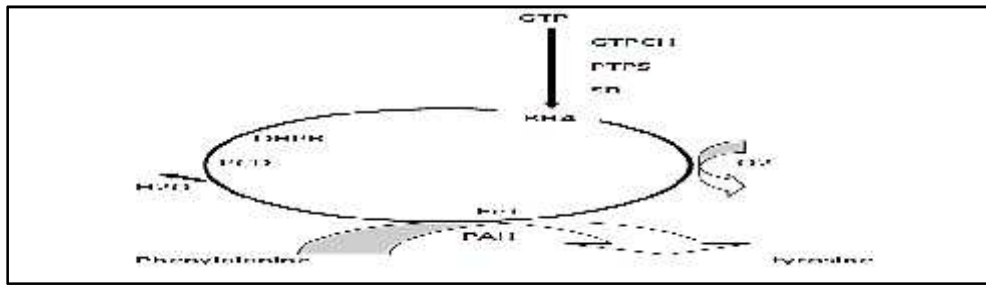


Figure 5 : Synthèse et régénération de la tétrahydrobioptérine

BH4 : Tétrahydrobioptérine ; PAH : Phénylalanine Hydroxylase ; DHPR : Dihydroptéridineréductase ; PCD : Carbinolamie-4a-Deshydratase ; GTP : Guanosine Triphosphate ; GTPCH : GTP Cyclohydrolase 1 ; PTPS : 6-Pyruvoyl-tétrahydroptérine Synthétase ; SR : SépiaptérineRéductase.

II-1-2 Voie mineur

En l'absence de métabolisme de phénylalanine hydroxylase, la phénylalanine est déviée dans une voie mineure qui n'est pas employée normalement. La portion de la molécule d'alanine est transaminée en pyruvate, génère du phénylpyruvate (Blau, et al., 2010).

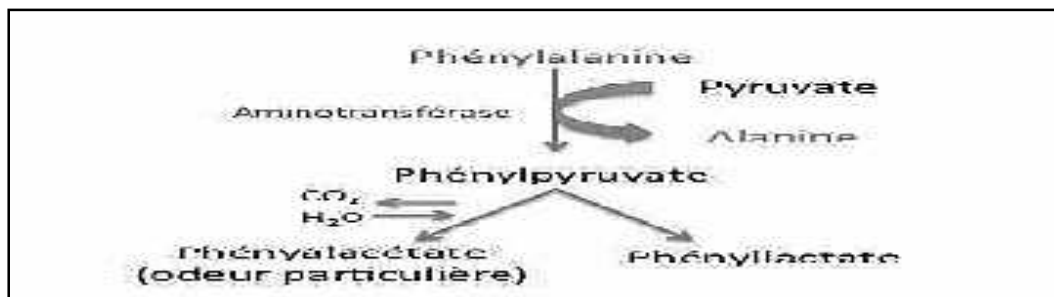


Figure 6: Voie mineur du métabolisme de la phénylalanine

II-3 Métabolisme anormal de la phénylalanine

II-3-1 Anomalie de métabolisme des acides aminés PAH

La perte de l'activité de la PAH provoque une augmentation de la concentration de phénylalanine dans le sang et les concentrations toxiques dans le cerveau. La phénylcétonurie non traitée est associée à une déficience intellectuelle progressive, accompagnée par une constellation de symptômes supplémentaires, qui peuvent inclure une éruption eczémateuse, autisme, épilepsie, et déficits de moteur. Les problèmes de développement, le comportement aberrant, et les symptômes psychiatriques souvent devenu évident que l'enfant grandit (Blau et al., 2010).

Chapitre II: Dépistage et aspects cliniques

I-Dépistage biochimique

I-1 Les différents types d'hyperphénylalaninémie

➤ Phénylcétonurie typique ou classique

La PCU typique correspond à des taux de Phe plasmatique supérieurs à 20mg/100ml de plasma au dépistage. Ce type de PCU va donc nécessiter un régime strict pour éviter une arriération mentale profonde. Elle correspond à une activité de l'enzyme PAH inférieure à 1 (Bandon et al., 2005).

➤ Phénylcétonurie atypique ou non classique

En cas de PCU atypique, le déficit enzymatique est moins sévère que lors d'une PCU classique. La PAH possède alors une activité comprise entre 1 et 5% et le taux de Phe plasmatique est compris entre 10 et 20mg/100ml de plasma. Cette forme de PCU justifie également un traitement (Trocello et al., 2010).

➤ Hyperphénylalaninémie modérée permanente (HPMP)

Lorsque le déficit enzymatique est encore moindre (activité de la PAH supérieure à 5%), il s'agit d'une hyperphénylalaninémie modérée permanente (HPMP) dans laquelle les taux de Phe plasmatique sont spontanément inférieurs à 10mg/100ml de plasma.

➤ Déficit du cofacteur ou PCU maligne

Dans 1 à 2% des cas, le déficit ne concerne pas l'enzyme PAH mais la synthèse ou le recyclage de son cofacteur, la BH4. Quel que soit le degré d'hyperphénylalaninémie, cette hypothèse doit être éliminée par dosage des bioptéridines urinaires et de la dihydropteridine réductase sanguine dans le bilan initial prélevé au moment de la découverte de la PCU. Cette forme particulière de PCU va nécessiter des traitements particuliers mais des séquelles neurologiques subsisteront (Feuillet, 2006).

Tableaux I: Les différents phénotypes de la PCU en fonction de la concentration de la Phénylalanine (Trocello et al., 2010)

Type de PCU	Taux sanguins de PHE
PCU typique	> 20mg/dl
PCU atypique	10 < PHE < 20mg/dl
HPAM	3 PHE 10mg/dl

II-Conséquence pour l'organisme du catabolisme de la phe.

II-1-Hyperphénylalaninémie et toxicité cérébrale

Il y a une corrélation entre la concentration de la phénylalanine plasmatique et la détérioration neurologiques, les anomalies électroencéphalographique (EEG) et les taux sanguins de neurotransmetteurs, en particulier de la dopamine.

En spectroscopie RMN, des anomalies au-delà de 21mg/100ml ont été mise en évidence(Krause et al., 1985).

II-2 Carence en tyrosine

Le déficit complet d'activité de la PAH engendre une incapacité à générer de la tyrosine à partir de phénylalanine. La tyrosine devient donc un acide aminé essentiel. Dans cette hypothèse, le fœtus et le nouveau-né peuvent générer assez de Tyr à partir de leur stock de Phe pour leur propre besoin. De plus la mère de par son statut hétérozygote ne peut fournir à son fœtus une quantité suffisante de Tyr (Bessman, Williamson, and Koch, 1978).

➤ La tyrosine: précurseur des catécholamines

La biosynthèse des catécholamines a lieu dans la médullosurrénale et dans les neurones du SNC et SNP. La dopamine est le premier neurotransmetteur à être formé à partir de la L-Dopa avec l'intervention d'une coenzyme: le phosphate de pyridoxal (dérivé de la pyridoxine :vitamine B6)(Koch et al., 2002).

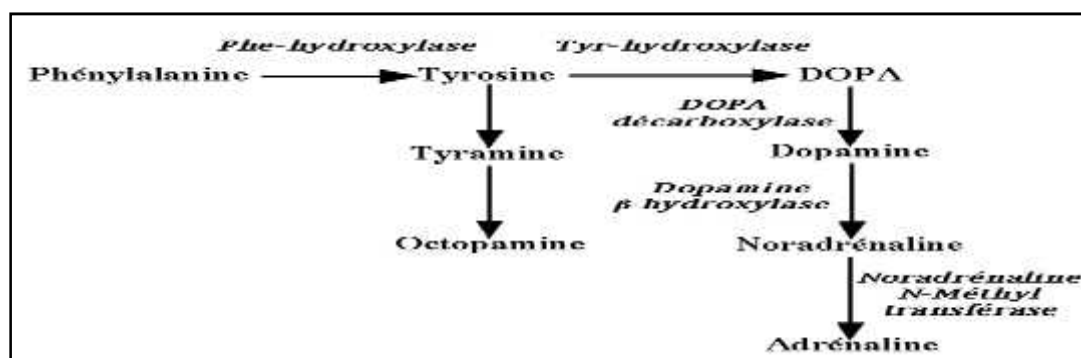


Figure 8 :Biosynthèse des catécholamines(Wright, 2003)

➤ La tyrosine:constituant de la mélanine

La pigmentation - ou mélanogénèse résulte des interactions de plusieurs gènes et de leurs produits, et conduit à la production des mélanines. Ces pigments spécifiques sont synthétisés par les mélanocytes, à l'intérieur d'organites spécialisés, les mélanosomes. La régulation de la mélanogénèse s'effectue à différents niveaux; cependant, l'enzyme tyrosinase est principalement responsable du contrôle de la biosynthèse des mélanines (Kwon et al., 1987).

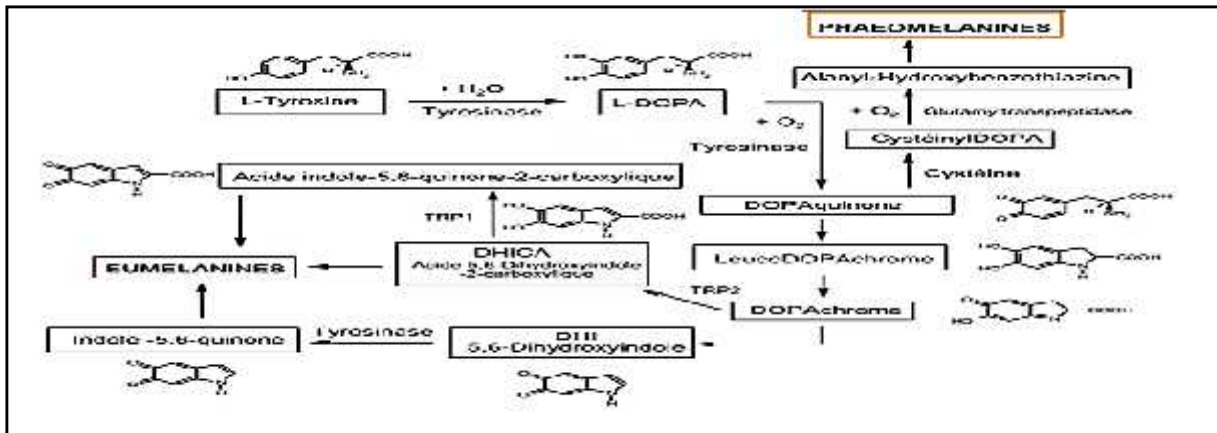


Figure 9: Biosynthèse de la mélanine (Okombi, 2013)

➤ **La tyrosine: précurseur d'hormones thyroïdiennes**

De plus, dans la glande thyroïde, la production d'hormones: la tétraiodothyronine ou thyroxine (T4) et surtout la triiodothyronine (T3), se fait à partir d'iode et de la Tyr (Durand and Beaudoux, 2011).

II-3- Carence en tryptophane

Le trp est le précurseur de trois produits spécifiques:

- Les nicotinamide-adénine di nucléotides (NAD⁺, NADP⁺)
- La mélatonine
- La sérotonine (=5 Hydrox tryptophane). La synthèse se fait grâce à la tryptophane hydroxylase et à son cofacteur: La BH4.

Ces derniers voient leur métabolisme grandement diminué: voire absent, en raison de la forte monopolisation du transporteur LAT1 (L-type amino acid transporter 1) par la phe. Dans la PCU non traitée, la carence en tryptophane contribue aux lésions neurologiques par défaut de synthèse des neurotransmetteurs (Martinelli et al., 2013).

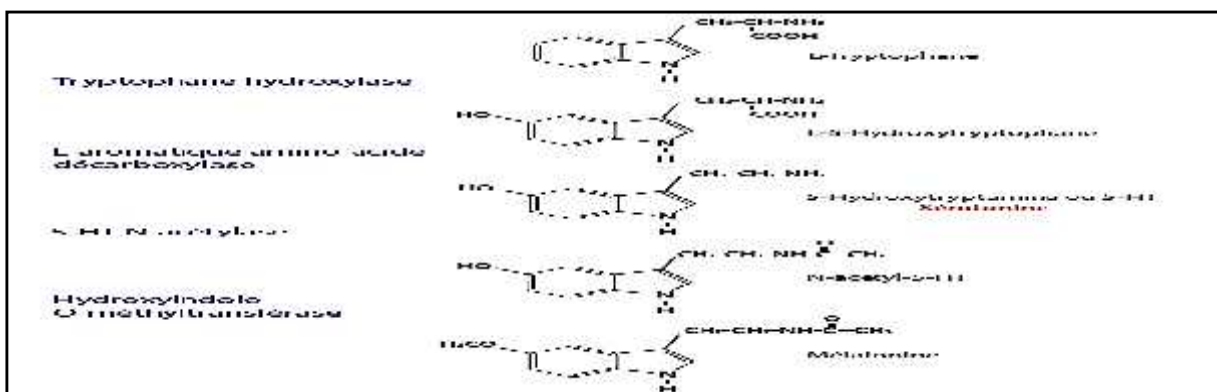


Figure 10: Biosynthèse de la sérotonine et de la mélanine à partir de Tr (Bi et al., 2015)

III- Dépistage de la phénylcétonurie

III-1 Dépistage néonatal

Le DNN, réalisé après information des parents, repose sur le test de Guthrie, un test sanguin pratiqué au 3ème jour de la vie de l'enfant: il consiste à recueillir une goutte de sang capillaire, prélevé au niveau du talon, déposée sur un buvard, aux coordonnées de l'enfant (nom, date de naissance, maternité d'origine, etc.). Les patients et leur famille appellent cela « réaliser un buvard ». Ce buvard est envoyé à un centre de dépistage qui procède à l'analyse par spectrométrie.

Le dépistage de la PCU se fait selon le diagramme de prise de décision. Le seuil d'action est fixé à 180 $\mu\text{mol/L}$ de plasma. La démarche du laboratoire intègre l'« imprécision » de la méthode dans le schéma de prise de décision en fixant un seuil de retest à 150 $\mu\text{mol/L}$ de plasma. Si la concentration est supérieure à ce seuil, l'échantillon est retesté en double dans une nouvelle série(**Feuillet and Huet, 2011**).



Figure 11:Le sang d'un nouveau-né est collecté sur un carton Guthrie(**Bodamer, 2010**)

Selon le résultat de la moyenne du retest, plusieurs cas sont possibles :

- Si la concentration en Phe est inférieure à 180 $\mu\text{mol/L}$ de plasma, le dosage est normal et le dépistage est négatif.
- Si la concentration en Phe est comprise entre 180 et 300 $\mu\text{mol/L}$ de plasma, un contrôle est nécessaire. Le médecin référent demande alors un nouvel échantillon pour pouvoir conclure sur le dépistage.
- Si la concentration est supérieure à 300 $\mu\text{mol/L}$ de plasma, le dépistage est positif et l'enfant est convoqué pour une consultation en urgence(**De Montis et al., 2017**).

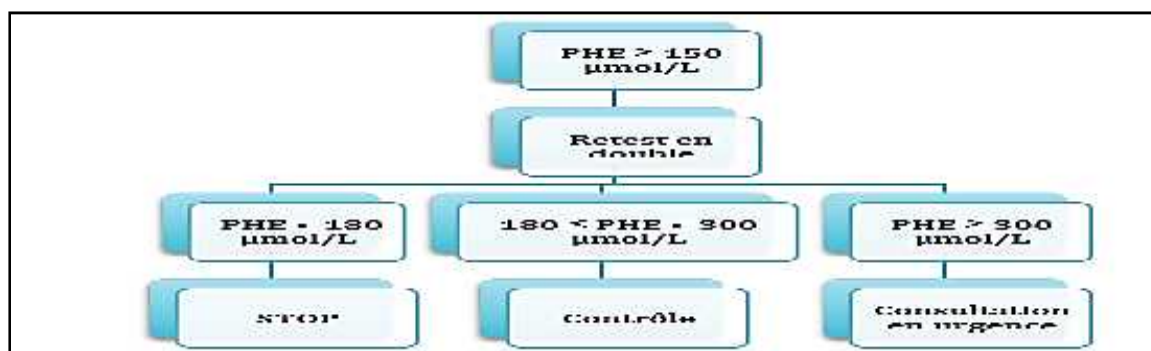


Figure 12:Diagramme de prise de décision utilisé par le laboratoire(De Montis et al., 2017)

III-2 Diagnostic différentiel

Ce diagnostic différentiel est important car certains de ces déficits entraînent un déficit en neurotransmetteurs et nécessitent un traitement particulier (dopamine, 5-OH-tryptophane, BH4).

Le diagnostic différentiel se pose essentiellement devant un dépistage néonatal positif, c'est-à-dire un taux de Phe ≥ 3 mg/dl. Il y a un certain nombre d'hyperphénylalaninémie secondaires qu'il faut identifier:

Avec hypertyrosinémie

- hyperphénylalaninémie transitoire (prématuré +++);
- augmentation de la prise alimentaire de protéine;
- maladie hépatique (incluant la galactosémie et la tyrosinémie)

Sans hypertyrosinémie

- hyperphénylalaninémie transitoire (prématuré +++);
- secondaire à un médicament (triméthoprime, méthotrexate, antifoliques);
- maladie inflammatoire sévère;
- maladie rénale(Glaser et al., 1998).

III-3 Diagnostic des adultes

Le diagnostic de la PCU à l'âge adulte s'adresse à des personnes nées dans des pays ayant adopté le dépistage néonatal systématiquement ou à celles qui sont nées dans un pays où le dépistage n'est pas réalisé. Malgré les signes d'appel caractéristiques de cette maladie, certains malades développent des formes peu symptomatiques pouvant passer inaperçues. Le diagnostic peut également être réalisé chez des patientes après une mise au monde d'enfants ayant une embryofetopathie accompagné d'une microencéphalie. Le diagnostic des adultes s'effectue généralement par un dosage des acides aminés plasmatiques.

IV-Aspects cliniques

VI-I-Tableau clinique

IV-I-1-Evolution de la pathologie

La PCU est une maladie d'intoxication à la phe. Cette maladie, en l'absence de prise en charge, donne lieu à une intoxication rapidement progressive. Ce tableau clinique reste aujourd'hui très rare dans les pays développés mais certains individus peuvent échapper au dépistage néonatal ou être répertoriés à tort comme de faux négatifs.

Les symptômes apparaissent parallèlement à l'augmentation de la concentration en phe dans le sang et les différents organes. Particulièrement, le système nerveux central (SNC).

(Denost Lemasson, 1989).

VI-2 Troubles cognitifs et psychologiques

Les études ont montré chez les enfants et les adultes traités, l'apparition de symptômes neurologiques et des perturbations émotionnelles et comportementales **(Yao and Yang, 2010).**

➤ Chez les enfants

Les enfants atteints de PCU et traités rapidement et de façon continue par un régime seul, présentent un fonctionnement intellectuel normal mais généralement inférieur à la population moyenne et inférieur à leurs frères et sœurs.

De plus, il a été mis en évidence qu'en moyenne les résultats scolaires d'un enfant PCU étaient moins élevés. Des dysfonctionnements ont été notés dans la mémorisation, le raisonnement conceptuel et la stratégie organisationnelle. Des troubles de l'estime de soi ainsi que du développement affectif ont été documentés **(Glanowski et al., 2015).**

➤ Chez les adultes

Chez les adultes, les mêmes troubles ont été révélés. Il peut également souffrir d'un manque d'autonomie, peuvent avoir tendance à développer des idées dépressives, une anxiété, des phobies, des difficultés sociales d'isolement.



Figure 13:Microencéphalie d'un bébé et d'un adulte phénylcétonurique(<https://ghr.nlm.nih.gov/condition/phenylketonuria>)

Chapitre III:Etude génétique

I-Epidémiologie

➤ Prévalence

La prévalence de la phénylcétonurie varie considérablement à travers le monde. Une hyperphénylalaninémie persistante est détectée chez environ une naissance sur 4000 en Turquie en raison d'une forte consanguinité au sein de la population (Blau et al., 2010).

Tableau II:Prévalence de la PCU dans le monde(Blau et al., 2010)

Pays	Prévalence de la PCU
En Europe	1/ 10 000 naissances vivantes
Turquie	1/4000
Aux États-Unis	1/15 000
En Amérique latine	de 1/ 50 000 à 1 / 25 000 naissances
En Chine	de 1 / 15 000 à 1/100 500 naissances
Thaïlande	moins d'une 1/ 200 000
au Japon	1/ 70 000
L'Afrique	1/100 000
Finland	1/100 000
Island	1/40000

➤ Incidence

L'incidence de la PCU dans les populations caucasiennes se situe entre 1 à 10.000 et 1 à 15.000 personnes. Il a été suggéré que la forte incidence de la PCU en Turquie est due aussi à la forte prévalence de la consanguinité et la faible incidence observée en Finlande et au Japon est due à un effet fondateur négatif prononcé en Finlande et de la dérive génétique dans la fondation de la population de l'île japonaise (Sarkissian, Gamez, et al., 2011).

II-Le gène PAH

II-1 Techniques d'identification du gène PAH

➤ *La phénylalanine hydroxylase humaine recombinante produite dans Escherichia coli*

Un ADNc de phénylalanine hydroxylase humain complet a été recombiné avec un vecteur d'expression procaryote et introduit dans *Escherichia coli*.

Les bactéries transformées expriment la protéine immune réactive à la phénylalanine hydroxylase et la conversion de la phénylalanine dépendante de la ptérine en tyrosine. La phénylalanine hydroxylase humaine recombinante produite chez *E. coli* a été partiellement purifiée, et des études biochimiques ont été réalisées comparant l'activité et la cinétique de l'enzyme recombinante avec la phénylalanine hydroxylase native du foie humain. Les conditions de réaction optimales, les constantes cinétiques et la sensibilité à l'inhibition par les acides aminés aromatiques sont les mêmes pour la phénylalanine hydroxylase recombinante et la phénylalanine hydroxylase native (**Ledleys, Grenett, and Woos, 1987**).

➤ **Immunoprécipitation**

La première étape, le clonage d'un ADNc de *PAH* de rat par Immunoprécipitation des polysomes avec un anticorps anti-*PAH*. Cette sonde a permis, grâce à une forte homologie de séquence entre les ADNc de rat et d'homme, d'obtenir par simple criblage une banque de foie humaine un ADNc de *PAH* pleine longueur.

Secondairement, l'organisation du gène *PAH* humaine a été étudiée à partir d'une banque génomique de cosmides. Le gène comporte 13 exons dans un grand domaine de 90 kb, la plupart d'entre eux étant concentrés en son extrémité 3'-terminale (8 exons dans une zone de 15 kb). Cette répartition inégale a peut-être une signification en terme d'évolution génétique. L'exon le plus long (exon 13,892 Pb) est le dernier; il contient une petite fraction codante COOH-terminale et toute l'extrémité non codante 3'-terminale. La taille des introns est très variable, de 1 à 24 kb, et le rapport « séquences codantes/introns » est l'un des plus bas connu (2,4/85 kb) parmi les gènes eucaryotes (**DiLella, Kwok, et al., 1986**).

➤ **L'hybridation in situ**

L'hybridation in situ d'une sonde d'ADNc de *PAH* sur caryotype métaphasique a permis sa localisation plus précise en 1 2q22-24 (**Lidsky et al., 1985**).



Figure 14: Chromosome métaphasique étalé après hybridation in situ avec phPAH247 marqué au ^{125}I , un ADNc de *PAH* de 2,5 kb cloné dans pBR322. *Les flèches indiquent les grains radioautographiques sur le chromosome 12* (Lidsky et al., 1985)

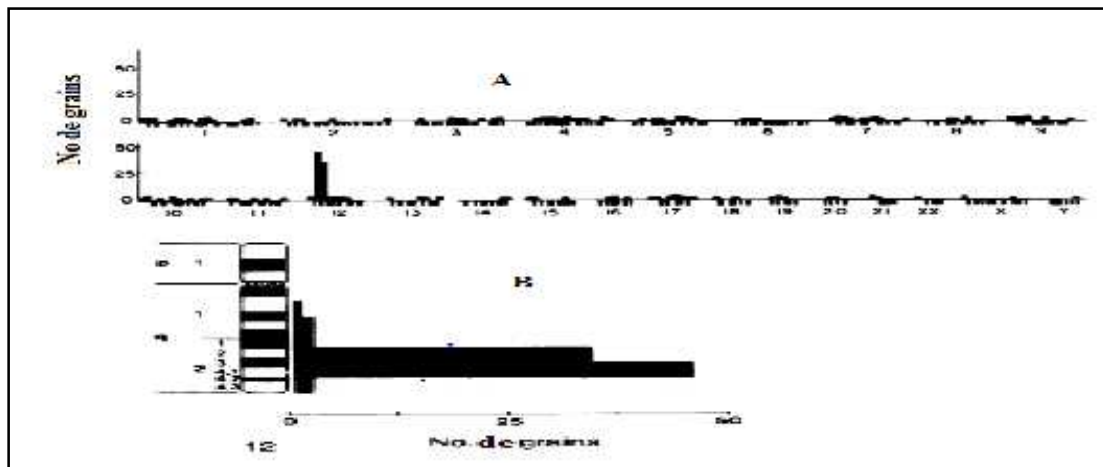


Figure 15: Histogrammes représentant la distribution des grains d'argent autoradiographiques (Lidsky et al., 1985).

(A) *Affaiblissement du gène humain PAH au chromosome 12.* Après hybridation in situ avec phPAH247 marqué au ^{251}I , la distribution des grains détectés sur 100 étalements chromosomiques a été reportée sur un idiogramme du caryotype humain haploïde divisé en unités mises à l'échelle du diamètre moyen mesuré d'un grain d'argent ($0,35\ \mu\text{m}$). De 243 grains associés avec les chromosomes, 90 (37%) ont été affectés au chromosome 12. (B) *Localisation sous-chromosomique du gène PAH.* La distribution de l'argent les grains observés sur 37 chromosomes marqués 12 ont été tracés. Des 90 grains détectés sur le chromosome 12, 81 (90%) ont été localisés dans la région 12q22 → q24.1

➤ Southern blot

L'analyse par Southern blot des clones génomiques de *PAH* et la localisation du gène sur le chromosome 12 grâce à des hybrides somatiques indiquent qu'il n'existe qu'une seule copie de ce gène et qu'il n'y a pas de pseudo gène *PAH* dans le génome humain.

Des expériences de transfection de l'ADNc pleine longueur de *PAH* dans un système d'expression eucaryote ont permis de montrer que toute l'information contenue dans ce seul ADNc de 2,4 kb est suffisante pour produire une protéine aux propriétés semblables à celles de la *PAH* native humaine. Ainsi, la *PAH* humaine est-elle bien un dimère constitué de deux sous-unités identiques codées par un seul et même gène et dont la différence de mobilité électrophorétique est due probablement à l'état variable de phosphorylation (Ledley et al., 1985).

➤ Northern blot

➤ Northern blot

Cinq microgrammes d'ARN de foie humain normal poly A+ (canal 1) ou total (canal 2) ont été déposés ainsi que cinq microgrammes d'ARN total de foie extraits d'un fragment de biopsie hépatique d'un patient homozygote pour l'haplotype 38 du gène et porteur d'une forme variante de phénylcétonurie (mutation «arabe») (canal 3). L'hybridation a été faite avec une sonde ADNc de *PAH* pleine longueur.

L'hybridation a été faite avec une sonde ADNc de *PAH* pleine longueur. Comme le montre, le Northern blot, l'existence d'un seul ARNm (**Marvit et al., 1987**).

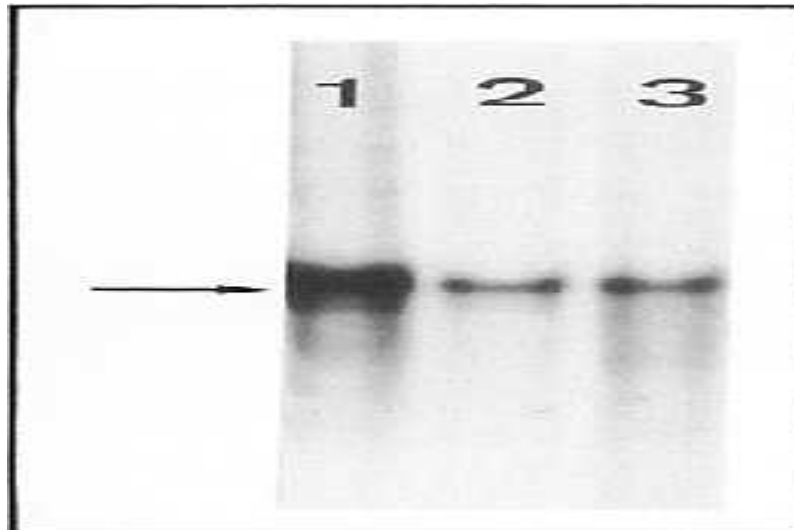


Figure 16: Analyse en Northern blot de l'ARNm du gène de PAH (**La flèche indique l'ARNm unique de PAH de 2,4 kb**)(Lyonnet et al., 1988).

Cinq micro grammes d'ARN de foie humain normal poly A+ (cana/ 1) ou total (canal 2) ont été déposés ainsi que cinq microgrammes d'ARN total de foie extraits d'un fragment de biopsie hépatique d'un patient homozygote pour l'haplotype 38 du gène et porteur d'une forme variante de phénylcétonurie (mutation «arabe») (cana/ 3). L'hybridation a été faite avec une sonde ADNc de *PAH* pleine longueur. La flèche indique l'ARNm unique de PAH de 2,4 kb.

➤ **La cartographie du PAH**

La région 5' non codante du premier exon est longue de 222 bp. Elle comporterait en position 105-114 une séquence oligonucléotidique (UCGUUACCGC) présentant une homologie partielle (80%) avec l'extension 3' terminale de l'ARN ribosomal de 18S. Elle est interprétée comme un possible site de reconnaissance pour la liaison du transcrit mature avec cet ARN ribosomal durant la traduction (**Lidsky et al., 1985**).

Cette même région 5' non codante contiendrait aussi deux séquences répétées inversées longues de 13 bp, situées en position 44-56 et 108-120 et présentant une homologie inverse de 77%. La structure en « épingle à cheveux » qui pourrait ainsi être réalisée dans l'extrémité 5' de l'ARNm serait impliquée dans sa stabilité post- transcriptionnelle.

La région 3' non codante est sans originalité. Longue de 851 bp, elle contient de multiples codons stop de traduction dans toutes les phases de lecture. Elle présente trois séquences consensus de polyadénylation (AATAAA) en position 2198 ; 2347 et 2413. La distance entre la dernière de ces séquences et la queue polyadénylée est de 13 bp et c'est elle qui semble être exclusivement utilisée dans le processus normal de coupure nucléolytique-polyadénylation(**Robson et al., 1982**).

Tableau III:L'ADNc et les annotations de l'ADN génomique. Exon 13^aADNc traduit et couvre uniquement les codons de terminaison. **Exon 13 ADNg 3' s'étend pour inclure les signaux de polyadénylation(Konecki et al., 1992).**

Exon	ADNc	ADNg	Intron	Séquence
1	1-60	1-60	1	61-4232
2	61-168	4233-4340	2	4341-22214
3	169-352	22215-22398	3	22399-39585
4	353-441	39586-39674	4	39675-50549
5	442-509	50550-50617	5	50618-61889
6	510-706	61890-62086	6	62087-64271
7	707-842	64272-64407	7	64408-65465
8	843-912	65466-65535	8	65536-70272
9	913-969	70273-70329	9	70330-72792
10	970-1065	72793-72888	10	72889-73444
11	1066-1199	73445-73578	11	73579-76708
12	1200-1315	76709-76824	12	76825-78005
13	1316-1359	78006-78897		

II-2 Localisation du gène *PAH*

Le gène de la *PAH* se situe sur le chromosome 12q24.1. Le gène est constitué de 13 exons qui sont traduits en une protéine de 452 acides aminés. Plus de 550 mutations pouvant générer une maladie ont été identifiées et rapportées sur la base de données des mutations de la *PAH*. Le gène *PAH* est transcrit en un ARN messager de 2,4 kb. La région codante de cet ARN messager est un cadre ouvert de lecture de 1356 Pb débutant au premier AUG, en position 223, et finissant au codon stop UAA en position 1579. Il code pour un peptide de 451 acides aminés (si l'on exclut la méthionine initiatrice) (**Scriver et al., 2003**).

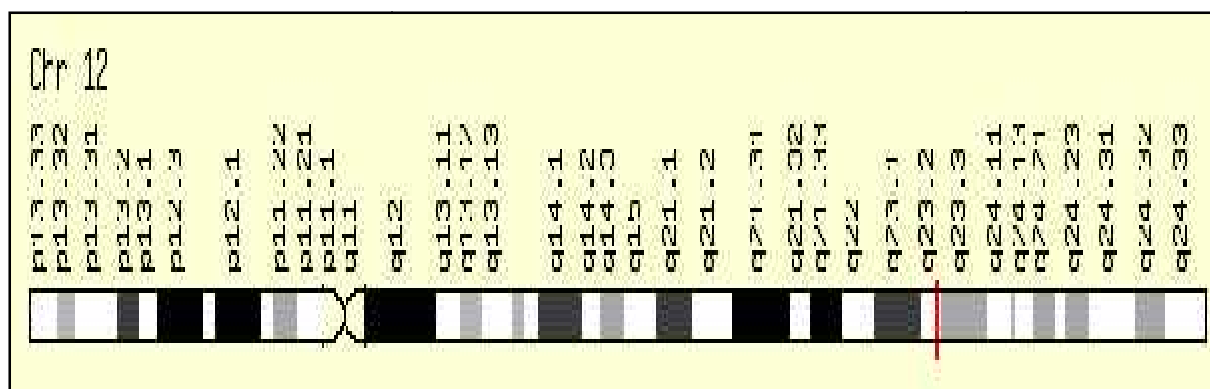


Figure 17: L'idéogramme du chromosome 12 représentant l'emplacement approximatif du gène *PAH* sur le bras long. *La localisation du gène PAH est dénotée par marqueur rouge (Stelzer et al., 2011).*

II-2-1 Polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) dans le gène *PAH*

L'analyse Southern de nombreux échantillons d'ADN génomique individuels digérés par une batterie d'enzymes de restriction a démontré la présence d'au moins huit RFLP associés au gène *PAH*. Le haut degré d'hétérozygotie de ces RFLP chez les familles caucasiennes de PCU a grandement facilité la mise en œuvre, sur la base de l'analyse des haplotypes, du diagnostic prénatal et du conseil génétique dans les familles de PCU. Sept RFLP dimorphes et un trimorphique (*HindIII*) détectés par Southern ont été utilisés pour définir des haplotypes distincts au locus *PAH*: *BglIII* (Dworniczak, Wedemeyer, and Horst, 1991), *PvuII* (a) (Eisensmith and Woo, 1992) et *PvuII* (b), *MspI* (Dworniczak et al., 1991), *XmnI* (Alexei A Goltsov et al., 1992), et *HindIII*. Sur les 384 (27 x 3) haplotypes possibles définis par ces sites, seulement 87 sont connus (Scriver et al., 2003).

L'examen détaillé du fragment d'amplification contenant le polymorphisme détecté par digestion *HindIII* a identifié une région contenant un VNTR. La comparaison de cette région dans les familles caucasiennes de PCU démontre la présence d'au moins six allèles qui diffèrent par le nombre d'unités répétées. Cette dernière découverte permet une expansion du système d'haplotypes existant, passant de 384 combinaisons possibles à au moins (A A Goltsov, Eisensmith, and Woo, 1992).

II-2-2 Nombre variable de répétitions en tandem dans le gène *PAH* (VNTR)

Le gène *PAH* est lié à un polymorphisme à nombre variable de répétitions en tandem (VNTR), qui est un système de répétition en tandem de 30 Pb AT-riche (70%) situé à

Les allèles les plus STR sont présents dans les chromosomes *PAH* normaux et mutants avec une distribution continue du plus petit (226 Pb) au plus grand (258 Pb) allèle. Une fréquence plus élevée de l'allèle de 238 Pb parmi les chromosomes mutants et la fréquence plus élevée des allèles de 242 Pb et 246 Pb parmi les chromosomes normaux ont été établies chez des Caucasiens de différentes populations européennes. Les deux allèles les plus courants, le 238 Pb et le 242 Pb, représentent ensemble environ 57% des chromosomes normaux et 68% des mutants. Le haut degré de polymorphisme et la forte ségrégation mendélienne de ce système, le rendent utile pour le diagnostic prénatal et la détermination du dépistage des porteurs dans les familles de PCU.

II-3 Banque de gène

Le gène *PAH* a un certain nombre d'orthologues connus dans d'autres organismes, dont l'un des plus importants se trouve chez la souris. La souris est un organisme modèle important pour l'étude de *PAH* et de son rôle dans le métabolisme, en raison de la grande quantité de conservation entre les gènes *PAH* humains et murins. La figure montre les résultats d'un alignement BLAST2 entre le *PAH* humaine et la souris (Panel, 2001).

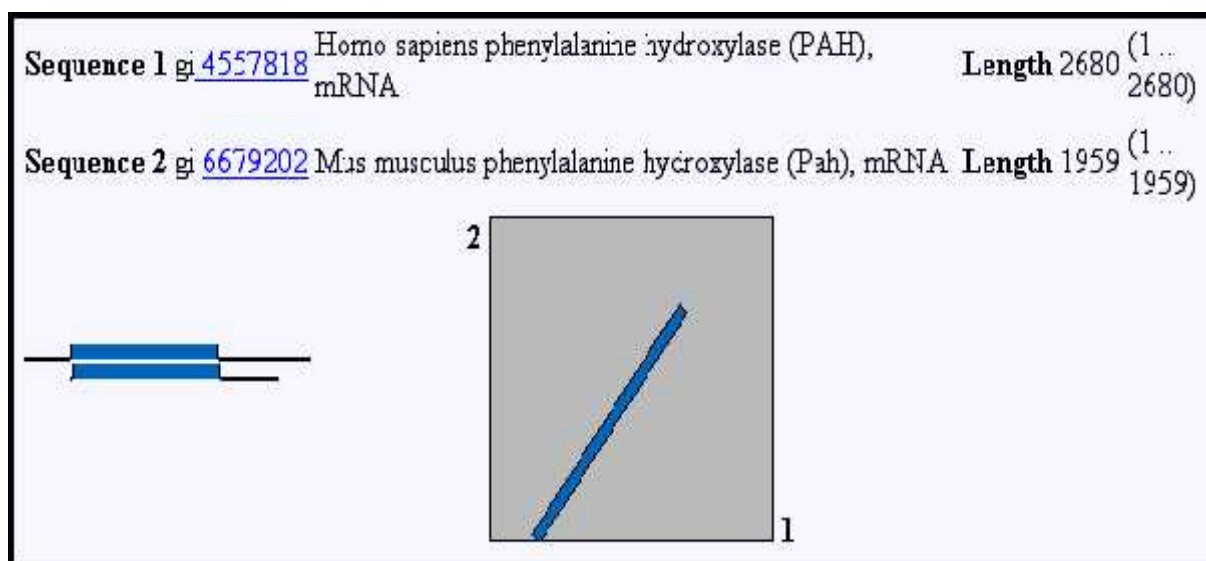


Figure 20: Résultats d'un alignement entre les séquences *PAH* humaines et murines.

La ligne est ininterrompue et se déplace assez uniformément du coin inférieur gauche au coin supérieur droit, ce qui signifie que les séquences sont hautement conservées. Un alignement parfait se déplace directement de bas en haut à gauche, divisant le carré gris en moitiés exactes (Campbell, 2003).

III- Mutations du gène *PAH*

Plus de 98% des mutations associées à l'HPA humain se produisent au locus *PAH*; le reste se trouve aux loci dédiés à la synthèse et à la régénération de la tétrahydrobioptérine. Le gène *PAH* a des éléments régulateurs et une architecture typique de nombreux gènes

d'entretien. Le locus abrite plusieurs centaines d'allèles connus, dont certains sont polymorphes et neutres dans leur effet sur l'activité de l'enzyme PAH; la plupart sont une cause de l'HPA (**Sarkissian et al., 2008**).

Plus de 560 allèles pathogènes de *PAH* sont documentés dans la base de données. La grande majorité des allèles sont des causes connues (ou présumées) de PCU ou de HPA non-PCU, ayant été confirmés chez des patients avec un phénotype HPA. Les mutations pathogènes se répartissent en cinq classes: 63% *faux-sens*, 13% *petites délétions*, 11% *épissage*, 7% *putatif silencieux*, 5% *stop / non-sens*, 1% *petites insertions*. Les grandes délétions, autrefois considérées comme rares, représentent probablement environ 3% des mutations responsables de la PCU (**Trefz et al., 2009**).

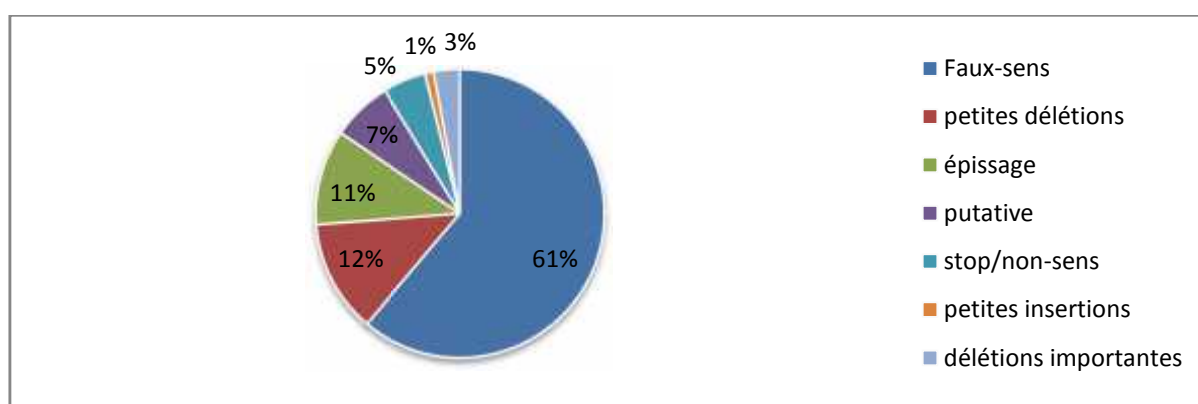


Figure 21: Types de mutations géniques et les fréquences relatives (%) du *PAH* (**Sarkissian, Gamez, et al., 2011**)

La plupart des mutations **faux-sens** se localisent sur la région entre et incluant l'exon 5 (résidu PAH 148) et l'exon 12 (résidu PAH 438): 57 de ces mutations sont situées dans la séquence du domaine régulateur (résidus 1-142); 231 mutations ciblent le domaine catalytique (résidus 143-410); et 14 sont situés dans la séquence du domaine de tétramérisation (résidus 411-452). De *petites délétions* ou *insertions* se produisent dans le gène *PAH*. **Les grandes délétions** affectant les régions codantes sont rares. **Les grandes insertions ou les duplications** de gènes n'ont pas encore été rapportées (**Scriver et al., 2003**).

Les allèles de novo sont des occurrences rares dans la phénylcétonurie et les phénotypes apparentés. M1I et IVS3nt-6 ont été rapportés une fois comme des allèles de novo, une fois de Norvège (**Knappskog et al., 1996**) et E76G a été rapporté une fois à Taiwan (**Chen et al., 2002**). Une autre occurrence (non nommée) est signalée une fois en Allemagne du Sud. Les allèles de novo ne peuvent pas être reconnus si les allèles parentaux n'ont pas été analysés, la pratique qui n'est pas uniforme. En conséquence, on ne peut pas dire que ces

quelques allèles de novo ont révélés des hot spots de mutation et que le locus *PAH* est inhabituellement mutable (Aulehla-Scholz and Heilbronner, 2003).

Tableau IV:Types et nombres de variations affectant le gène *PAH*(Moyrand, 2015)

Type de variations	Nombre de variations
Faux sens/ Non sens	519
Epissage	104
Régulateur	2
Petites délétions	88
Petites insertions	17
Petites indels	6
Grosses délétions	46
Grosses insertions	3
Réarrangement complexes	2
Variations répétées	0
Total de tous les types de variations	787

III-1 Polymorphisme des allèles du gène *PAH*

La séquence d'ADNc de *PAH* contient des allèles polymorphes reconnus. Trois formes de polymorphisme *PAH* existent:

➤ ***Polymorphismes de longueur de fragments de restriction bialléliques (RFLPs)***

Nommé à partir de l'enzyme de restriction correspondante (*Bgl*III, *Pvu*IIa, *Pvu*IIb, *Eco*RI, *Alu*I, *Msp*I, *Xmn*I, and *Eco*RV). À l'exception des sites *Eco*R, qui nécessitent encore une analyse par Southern blotting, les RFLP peuvent être analysés par des méthodes basées sur l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) *Bgl*I(Dworniczak et al., 1991),*Pvu*IIa(Dockhorn-Dworniczak et al., 1991),*Pvu*IIb, *Msp*I(Dworniczak et al., 1991), et *Xmn*I(A A Goltsov et al., 1992).

➤ ***Polymorphismes multialléliques***

qui comprennent une séquence hypervariable [nombre variable de répétitions en tandem (VNTRs)] de cassettes de 30 Pb abritant au moins 10 allèles (différents par le nombre de répétitions) dans un fragment *Hind*III 3 kb en aval du dernier exon dans *PAH*(Latorra, Stern, and Schanfield, 1994), et une série de courtes répétitions en tandem

[tétranucléotide (TCTA) n] (STR) hébergeant au moins 9 allèles dans le troisième intron de *PAH* (Giannattasio et al., 1997).

➤ **Polymorphisme d'un seul nucléotide**

sont des allèles silencieux (non-RFLP); par exemple, un polymorphisme c.696A/ G silencieux dans le codon 232 (Q232Q) (Lichter-Konecki, Schlotter, and Konecki, 1994).

Les allèles RFLP, STR et VNTR peuvent être combinés pour générer des haplotypes de base au locus *PAH* étendu. Un minihaplotype informatif composé uniquement des allèles STR et VNTR et accessible à l'analyse par PCR a été développé (Fang et al., 1994), ainsi que d'autres approches (Zschocke, Graham, Carson, & Nevin, 1995). Les haplotypes de *PAH* étendus (complets) portent des numéros arabes) et au moins 87 sont connus (Chien et al., 2004).

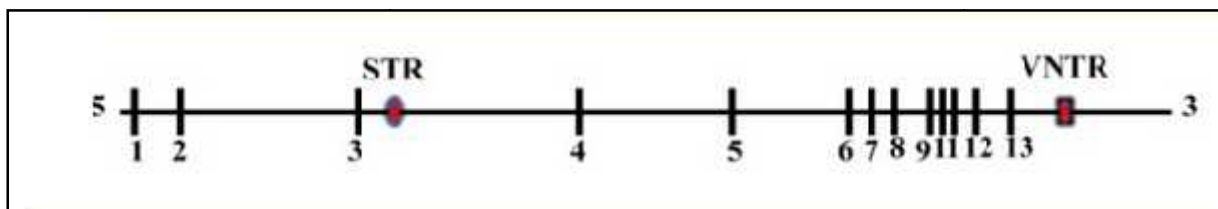


Figure 22: La carte du locus *PAH* indiquant les exons et deux autres marqueurs polymorphes couramment étudiés. *Le STR dans l'intron 3 et le VNTR dans le sens descendant du dernier exon sont montrés* (Cezary ekanowski, Jurkowska, and Bal, 2001)

La diversité des haplotypes de *PAH* est plus grande dans les populations africaines que dans les populations européennes, en supposant que ces derniers sont les descendants d'un petit groupe fondateur émergeant d'Afrique il y a 100 000 ans (Kidd et al., 2000).

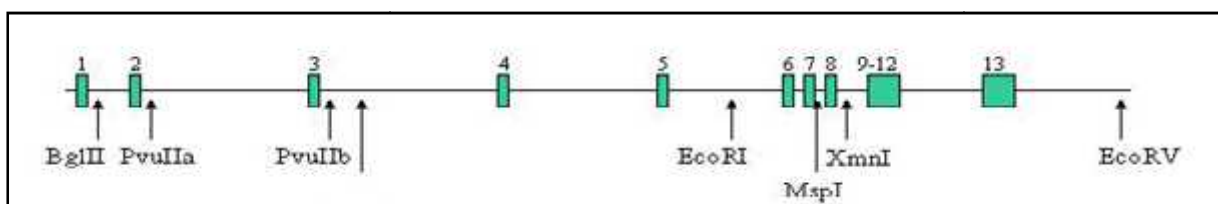


Figure 23: Carte schématique du locus *PAH* indiquant les exons et les sites des polymorphismes RFLP, STR et VNTR (Pro ina and Lugovska, 2011).

III-2 Mutations dans la méthylation du promoteur

Bien qu'une forte exposition à la phénylalanine (phe) ait influencé la méthylation de l'ADN.

L'état des leucocytes dans l'hyperphénylalaninémie (HPA), le potentiel de modification de la méthylation de l'ADN en tant que bio marqueur de prétraitement haute exposition phe chez les nouveau-nés sans alimentation avec HPA n'a pas été explorée. L'étude de profil de méthylation de l'ADN du promoteur du gène de la phénylalanine hydroxylase (*PAH*) à différents niveaux de PHE, et la possibilité de changements de modèle de méthylation de l'ADN étant un bio marqueur de l'exposition élevée de PHE chez les nouveau-nés sans alimentation avec HPA(Song et al., 2005).

III-3 Mutation dans les séquences régulatrices

➤ la mutation R408W

Parmi les mutations du *PAH* les plus courantes, on trouve R408W. La mutation R408W est retrouvée à des fréquences relatives d'allèles allant jusqu'à 84% en Europe (Zschocke et al., 2003).

La mutation R408W (c.1222C> T; CGG> TGG) (A G DiLella, Ledley, Rey, Munnich, & Woo, 1985), transition C vers T dans l'exon 12 du gène *PAH*, entraîne la substitution du tryptophane à l'arginine (Arg408 Trp408) au niveau des résidus d'acides aminés 408 et est une mutation nulle associée à <0,3% de l'activité normale et un phénotype PCU sévère (A G DiLella et al., 1985).

Cette mutation implique un dinucléotide CpG dans un codon dit "hyper mutable". Les di nucléotides CP sont sous-représentés dans l'ADN génomique humain, la plupart sont situés dans CpG îlots **de promoteurs**, et seulement une minorité (~ 3%) des cytosines sont méthylés. Dans les régions promotrices, la méthylation joue un rôle essentiel dans la régulation et l'expression des gènes. La méthylation des cytosines se produit également dans les di nucléotides CpG dans les exons et constitue une source de mutabilité. La cytosine méthyle dans son contexte di nucléotidique particulier (mCpG) peut subir une désamination spontanée initiant une substitution C> T et il est généralement supposé qu'une transition CpG vers TpG reflète la présence de cytosine méthyle. Cela pourrait être celui des explications de la fréquence relative élevée de l'allèle c.1222C> T (p.R408W) dans la population humaine (Murphy, Scriver, and Singh, 2006).

III-4 Mutations dans les séquences codantes

➤ Dans l'exon 9

Une autre mutation ponctuelle a été récemment décrite chez des patients allemands porteurs d'un fragment de restriction anormal engendré par l'enzyme MspI .Elle entraîne le

remplacement d'un codon leucine (CTG) par un codon praline (CCC) en position 311. Cette transition T → C dans l'exon 9 du gène crée de plus un nouveau site de restriction pour l'enzyme MspI. La mutation 311 (Leu - Pro) produit une enzyme extrêmement instable qui est totalement inactive et ne donne aucun matériel à réaction croisée immunologiquement détectable (A G DiLella et al., 1985).

➤ **Dans l'exon 12**

La méthodologie employée a été identique (clonage génomique et séquençage exon par exon) et a permis de découvrir une transition C - T sur la première base du codon 408 de l'exon 12 résultant en une substitution ponctuelle arginine (CGC) → tryptophane (TGG). Là encore, des expériences de transfection d'un ADNc porteur de cette mutation, dans une lignée cellulaire de mammifère en culture (cellules COS de rein de singe) ont montré l'inactivité du produit protéique mutant. Cette mutation, 408(Arg - Trp), est en fort déséquilibre de liaison avec l'haplotype 2 du gène *PAH* (Anthony G DiLella, Marvi, Brayton, & Woo, 1987).

Tableaux V: Types de mutations du gène *PAH* et leurs conséquences sur la protéine

Sites	Changement dans le nucléotide	Changement dans l'aa	mutations	Références
Exon 3	c.208_210del TCT	p.S70del	Délétion	(Wang et al., 2018)
Exon 3	c.331C>T	p.R111X	Non sens	(Golzio et al., 2007)
Exon 5	c.472C>T	p.R158W	Faux sens	(Goldberg et al., 2008)
Exon 5	c.482T>C	p.F161S	Faux sens	(Petersen et al., 2010)
Exon 5	c.505C>A	p.R169S	Faux sens	(ekanowski et al., 2001)
Exon 6	c.611A>G	p.EX6-96 A>G	Faux sens	(Heintz et al., 2012)
Exon 7	c.721C>T	p.R241C	Faux sens	(Y. Chen et al., 2015)
Exon 7	c.727C>T	p.R243X	Non sens	(Polak et al., 2013)
Exon 8	c.875C>T	p.P292L	Faux sens	(Vona et al., 2016)
Exon 11	c.1068C>A	p.Y356X	Nonsense	(Y. Chen et al., 2015)
Exon 11	c.1197A>T	p.V399V	SNP	(Heintz et al., 2012)
Exon 11	c.1139C>T	p.T380M	Faux sens	(Trunzo et al., 2013)
Exon 12	c.1223G>A	p.R408Q	Faux sens	(Murphy et al., 2006)
Exon 12	c.1222C>T	p.R408W	Faux sens	(Murphy et al., 2006)

III-5 Mutations dans l'ARNm

Six mutations (IVS4 + 3G> C, IVS11 + 2T> C, IVS12 + 4A> G, IVS12 + 6T> A, R400K et R400T) dans le 5' ; les séquences consensus du site d'épissage sont identifiées. La séquence entre -2 et +6 du site donneur d'épissage a été considéré comme hautement conservé, et toute mutation impliquant ces sites est susceptible d'affecter le bon épissage de l'intron. Ketterling et al. ont postulé que les mutations d'épissage-donneur n'impliquant pas l'invariant GT doublet à la jonction épisseuse-donneuse entraîneraient l'abolition de plus de 99% de l'épissage normal si la séquence d'épissage-donneur correspondait au consensus dans cinq ou six bases de la séquence consensus de huit bases. Sauf pour IVS11 + 2T> C, qui est directement impliqué le doublet invariant GT au donneur d'épissage de jonction de l'intron 11, les mutations IVS4 + 3G> C, IVS12 + 4A> G, IVS12 + 6T> A, R400K (c.1199G> A), et R400T (c.1199G> C) affectent les sites donneurs d'épissage de *PAH* introns 4, 12 et 11 en faisant correspondre le consensus à huit séquence en cinq ou six bases (Mount, 1982).

	Exon	Intron
(A) Consensus	AGG	GTAAAGT
(B) IVS4 + 3G>C	AGG	GTAAAGT
(C) IVS12 + 4A>G	CA	GTAAAGT
(D) IVS12 + 6T>A	CA	GTAAAGT
(E) R400K (c.1199G>A)	AG	GTAAAGT
(F) R400T (c.1199G>C)	AG	GTAAAGT

Figure 24: Les mutations affectant la séquence consensus d'épissage-donneur. (A) La séquence d'épissage-donneur consensus. (B) La substitution c.441 + 3 G>C en position nucléotidique +3 de l'intron 4 de *PAH*. (C) Le c.1315 + 4 A> G la substitution à la position nucléotidique +4 de l'intron 12 de *PAH*. (D) c.1315 + 6 T> Une substitution en position nucléotidique +6 de l'intron 12 de *PAH*. (E) La substitution de G> A c.1199 à la position de nucléotide 1 de intron 11 de *PAH*. (F) La substitution c.1199 G> C à la position de nucléotide 1 de l'intron 11 de *PAH* (Song et al., 2005)

➤ Analyse de la transition GT → AT

L'ARNm de *PAH* mutant pourrait alors résulter d'une erreur dans le traitement de l'ARN. Une mutation PCU prévalente résultante d'une substitution (GT → AT) d'une seule base dans le site cannelé d'épissage du donneur 5'-à l'exon 12/ jonction intron 12 du gène *PAH*.

Depuis une substitution similaire dans l'intron 2 du gène de la β -globine humaine entraîne le saut de l'exon 2 de le transcrit ARNm correspondant, l'épissage pourrait causer le saut de l'exon 12 dans l'ARNm et donc la mutation casant la PCU (Song et al., 2005).

III-6 Mutation dans les introns

Une banque génomique de l'ADN d'un malade homozygote pour l'haplotype 3 a été criblée avec une sonde d'ADNc pleine longueur de *PAH* et les fragments contenant les zones transcrites du gène ont été séquencés.

La séquence nucléotidique de ces exons est identique à la séquence normale et la seule modification identifiée siège sur la première base de l'intron 12 du gène *PAH* où une guanine est remplacée par une adénine (Marvit et al., 1987).

➤ Analyse de « délétion »

Deux types de constatations ont permis de confirmer définitivement la responsabilité de cette mutation intronique dans l'inactivité de l'hydroxylases mutante.

Tout d'abord l'exon 12 est bien absent des ARNm de *PAH* mutants lors d'une expérience de protection à la nucléase.

Cette mutation GT → AT (intron 12) a été recherchée chez de nombreux patients phénylcétonuriques et s'est trouvée dans tous les cas (23 gènes) associée à l'haplotype 3 du gène de *PAH* suggérant un « effet fondateur » pour la diffusion de cette mutation en Europe du Nord. Elle est globalement responsable d'environ 40 % des allèles mutés dans cette population (Anthony G DiLella, Marvit, Lidsky, Güttler, & Woo, 1986).

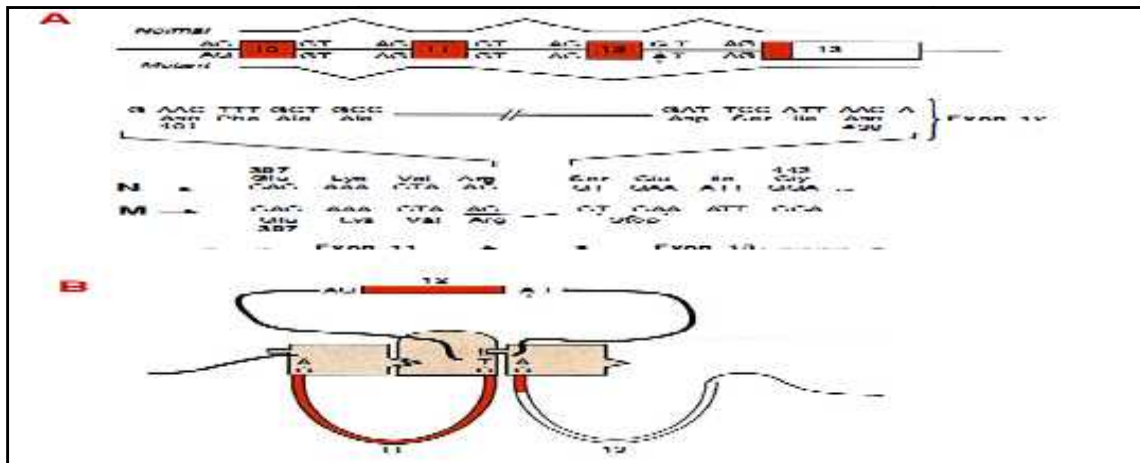


Figure 25:A .Représentation schématique des produits de l'excision-épissage normal ou aberrant (mutation GT → AT au site donneur d'épissage de l'intron 12) de l'ARN primitif du gène de *PAH*. Figurent aussi les séquences de l'ARNm de *PAH* normal (N) ou mutant (M) qui montrent la "délétion, de l'exon 12 ainsi que le décalage de phase de lecture qui résultent de la mutation intronique. (Kwoket al., 1985).

Tableau VI:Mutations du gène PAH dans les introns et leurs conséquences

Locus	Mutation	Type	Conséquences	Références
Intron 2	c.168+5G>C	SNP	variante d'intron	(Polak et al., 2013)
Intron 4	c.441+3G>C	SNP	variante d'intron	(Li et al., 2015)
Intron 4	c.441+5G>T	SNP	variante d'intron	(Trunzo et al., 2013)
Intron 4	c.442-1G>A	SNP	variante d'accepteur d'épissage	(Yu et al., 2014)
Intron 7	c.842+1G>A	SNP	variante du donneur d'épissage	(Polak et al., 2013)
Intron 7	c.842+2T>A	SNP	variante du donneur d'épissage	(Biglari et al., 2015)
Intron 8	c.913-2A>G	SNP	variante du donneur d'épissage	(Srilekha et al., 2015)
Intron 8	c.913-7A>G	SNP	variante d'intron	(Manti et al., 2016)
Intron 8	c.912+2T>C	SNP	variante du donneur d'épissage	(Biglari et al., 2015)
Intron10	c.1066-11G>A	SNP	variante d'intron	(Aldámiz-Echevarría et al., 2016)
Intron10	c.1066-3C>T	SNP	variante d'intron	(Grünert et al., 2013)
Intron12	c.1315+1G>A	SNP	variante du donneur d'épissage	(Baturina et al., 2014)
Intron12	c.1315+4A>G	SNP	variante d'intron	(Song et al., 2005)

III-7 Mutations associées à la réponse à la tétrahydrobioptérine BH4

Le spectre des HPA causés par un déficit en *PAH* va de l'HPA légère (HPAM) à la phénylcétonurie légère (PCU légère) et à la PCU intermédiaire ou classique. Les patients présentant un déficit en *PAH* sensible à la BH4 appartiennent principalement aux groupes de HPAM et de PCU légère (Blau and Erlandsen, 2004).

Certaines mutations potentiellement sensibles à la BH4 ont été exprimées par recombinaison dans des systèmes cellulaires eucaryotes ou *Escherichia coli* et se sont avérées avoir une activité résiduelle substantielle. Environ 64% de toutes les mutations sont situées dans le domaine catalytique de *PAH*, 14% dans le domaine régulateur, 10% dans le domaine de la tétramérisation et 12% sont introniques.

III-8 Mutation en Algérie

Certains travaux ont eu en charge un enfant porteur d'un déficit en *PAH*, né de parents cousins germains, homozygote pour l'haplotype 38 (Lyonnet et al., 1988). Il est né en Algérie où aucun programme de dépistage systématique des hyperphénylalaninémie n'existe encore. A 13 mois, il était atteint d'un retard mental très sévère avec convulsions et microcéphalie.

Ce patient, né d'un mariage consanguin et porteur à l'état homozygote de l'haplotype 38, a reçu, de ce fait, un seul et même gène mutant de ses deux parents. Dans l'hypothèse où le gène mutant est exprimé, un seul et même produit enzymatique défectueux ainsi qu'un ARN messager unique devraient être présents dans son foie (A G DiLella et al., 1985). Son étude directe devait donc éviter un fastidieux clonage et séquençage génomique. Une biopsie du foie à l'aiguille a été réalisée. Elle a permis de confirmer le déficit, de montrer l'existence d'une activité résiduelle de 2-3 % (forme variante) et de mener l'analyse moléculaire sur le fragment restant (20 mg). L'extraction immédiate des ARN de ce fragment biopsique a fourni 60 µg d'ARN totaux de bonne qualité (Munnich et al., 1982).

➤ Analyse par Southern

Leur analyse par Northern-blot a montré la présence d'un ARNm de *PAH* de taille et d'abondance normale. Une banque d'ADNc a été construite à partir d'ADN poly A+ purifiés. Le criblage de cette banque de 1 20 000 recombinants par une séquence normale de *PAH* a permis d'obtenir sept clones d'ADNc mutants dont deux clones représentatifs de la pleine longueur de l'ARNm. L'analyse de leurs séquences a montré une transition G → A au nucléotide 1065 de l'ARNm conduisant à la substitution glutamate → lysine au codon 280, dans l'exon 7 du gène (Lyonnet et al., 1989).

➤ Analyse de la « substitution » par PCR et l'hybridation

Cette mutation a été recherchée parmi 72 gènes mutants et a été exclusivement retrouvée chez des patients atteints d'une forme variante de déficit en hydroxylase. Cette recherche a été menée par hybridation entre des sondes oligonucléotidiques (normales ou mutées) et l'ADN des patients amplifié par méthode PCR (polymerase chain réaction) (Saiki et al., 1985). La sonde mutante n'a hybridé qu'avec l'ADN amplifié de six patients, tous porteurs de l'haplotype 38 du gène. Aucune hybridation n'a été détectée avec des allèles mutants d'autres haplotypes, ce qui suggère un fort déséquilibre de liaison entre la mutation 280^(glu → lys) et l'haplotype 38 du gène de *PAH*.

Cette mutation a été retrouvée dans trois familles non apparentées, deux originaires d'Afrique du Nord et une dans une famille de Bourgogne dont l'origine française a pu être formellement établie en remontant jusqu'en 1632 (Lyonnet et al., 1989).

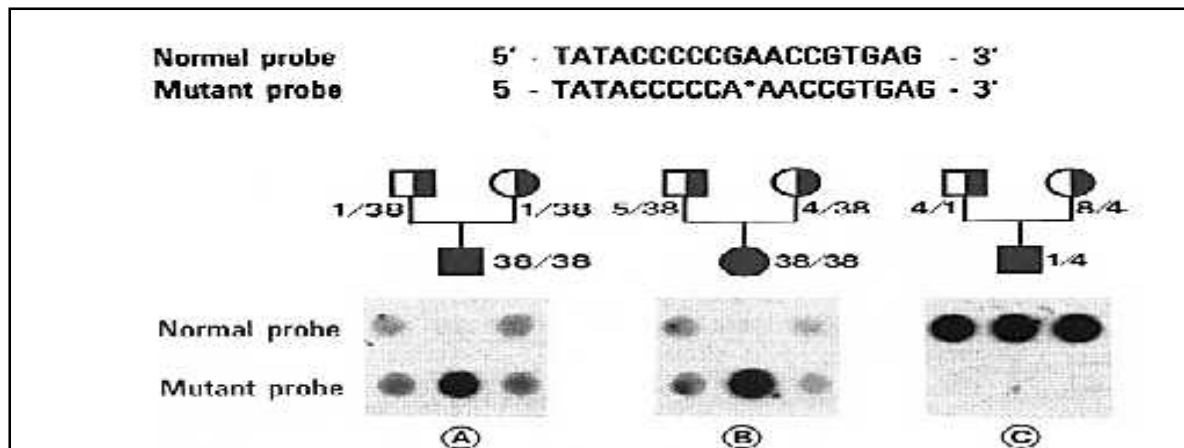


Figure 26: Analyse du génotype de trois familles nucléaires phénylcétonuriques sans histoire de consanguinité par amplification de l'ADN (méthode PCR) et hybridation avec un couple de sondes oligonucléotidiques normale ou mutante, pour la mutation 280 glu → lys. Cette figure présente deux familles où le patient est homozygote pour l'haplotype 38 du gène PAH, originaires d'Afrique du Nord (**famille A**), Saône-et-Loire, (**famille B**) et une troisième famille, originaire d'Afrique du Nord, où le propositus est porteur d'autres haplotypes du gène PAH (**famille C**). Les patients des familles A et B sont homozygotes pour la mutation (leur ADN amplifié n'hybride qu'avec la sonde mutante). Le patient C est porteur d'autres mutations au locus PAH (Lyonnet et al., 1988).

III-9 L'effet de mutations sur la fonction enzymatique

Au niveau de l'enzyme, il existe des mutations « nulles » (épissage, terminaison et mutations du cadre de lecture ainsi que de nombreuses mutations faux-sens) qui provoquent de graves altérations structurales ou détruisent le domaine catalytique et entraînent l'absence d'une protéine PAH fonctionnelle. En revanche, d'autres mutations (principalement faux-sens) interfèrent principalement avec le repliement des protéines, la régulation ou les paramètres de l'activité enzymatique et laissent la fonction résiduelle variable (Zschocke et al., 2003).

III-9-1 Faux-sens et les petites destructions d'acides aminés

➤ mutations du site actif

Sont des mutations affectant tout résidu dans le site actif de l'enzyme. La plupart de ces résidus sont strictement conservés dans les séquences PAH. Le fer, lié à l'enzyme par les chaînes latérales de H285, H290 et E330, est essentiel pour l'activité enzymatique. Certains résidus sont impliqués dans la liaison de BH₄ et des mutations dans ces résidus affectent la liaison de la ptérine à la PAH (par exemple, L249F, L249H, L255V et L255S). D'autres

mutations dans le site actif peuvent affecter la liaison au substrat phénylalanine, la structure globale du site actif ou avoir des effets plus indirects en affectant le repliement et la stabilité des protéines (Jennings, Cotton, & Kobe, 2000).

➤ **Les mutations de la structure de domaine**

Affectent soit les résidus formant les noyaux hydrophobes des domaines protéiques, soit les résidus qui peuvent d'une autre manière être responsables de l'intégrité structurale des domaines individuels, la minorité des mutations de structure de domaine affectent les résidus de surface (Jennings et al., 2000).

Tableaux VII: Mutations dans l'ADNc et leurs effets sur l'acide aminé

Aberration dans l'ADNc	Aberration protéique	Position	Domaine protéique	Références
c.1222C>T	p.Arg408Trp	Exon 12	Catalytique	(Murphy et al., 2006)
c.814G>T	p. (Gly272*)	Exon 7	Catalytique	(Johnston et al., 2004)
c.781C>T	p. (Arg261*)	Exon 7	Catalytique	(Murphy et al., 2006)
c.842C>T	p.Pro281Leu	Exon 7	Catalytique	(Regier and Greene, 2017)
c.473G>A	p.Arg158Gln	Exon 5	Catalytique	(van der Zee et al., 2007)
c.1241A>G	p.Tyr414Cys	Exon 12	Tétramérisation	(Hichri et al., 2011)
c.1208C>T	p.Ala403Val	Exon 12	Catalytique	(Pangalos et al., 2016)
c.194T>C	p.Ile65Thr	Exon 3	Régulation	(Polak et al., 2013)
c.898G>T	p.Ala300Ser	Exon 8	Catalytique	(Jeannesson-Thivisol et al., 2015)
c.1162G>A	p.Val388Met	Exon 11	Catalytique	(Aldámiz-Echevarría et al., 2016)
c.838G>A	p.Glu280Lys	Exon 7	Catalytique	(Gjetting et al., 2001)
c.721C>T	p.Arg241Cys	Exon 7	Catalytique	(Srilekha et al., 2015)
c.165delT	p. (Phe55Leufs*6)	Exon 2	Régulation	(Polak et al., 2013)
c.143T>C	p.Leu48Ser	Exon 2	Régulation	(Mirisola et al., 2001)
c.1042C>G	p.Leu348Val	Exon 10	Catalytique	(Polak et al., 2013)
c.754C>T	p.Arg252Trp	Exon 7	Catalytique	(Murphy et al., 2006)
c.441+5G>T	p. (?)	IVS 4		(Polak et al., 2013)
c.168+5G>C	p. (?)	IVS 2		(Dobrowolski et al., 2007)

c.1238G>C	p.Arg413Pro	Exon 12	Tétramérisation	(Stojiljkovic et al., 2006)
c.727C>T	p. (Arg243*)	Exon 7	Catalytique	(Trunzo et al., 2015)
c.331C>T	p. (Arg111*)	Exon 3	Régulation	
c.916A>G	p.Ile306Val	Exon 9	Catalytique	(Polák, Ůrge, and Kádaši, 2015)
c.734T>C	p.Val245Ala	Exon 7	Catalytique	(Polak et al., 2013)
c.1223G>A	p.Arg408Gln	Exon 12	Catalytique	(Murphy et al., 2006)
c.1055delG	p. (Gly352Valfs*48)	Exon 10	Catalytique	(Jeannesson-Thivisol et al., 2015)
c.1066-11G>A	p. (?)	IVS 10		(Dobrowolski et al., 2007)
c.1315+1G>A	p. (?)	IVS 12		(Regier and Greene, 2017)
c.782G>A	p.Arg261Gln	Exon7	Catalytique	(Regier and Greene, 2017)
c.1169A>G	p.Glu390Gly	Exon11	Catalytique	(Belostotskyetal., 011)
c.1243G>A	p.Asp415Asn	Exon12	Tétramérisation	(Jeannesson-Thivisol et al., 2015)
c.533A>G	p.Glu178Gly	Exon6	Catalytique	(Georgiou et al., 2012)
c.115 117 delTTC	p.Phe39del	Exon2	Régulation	(Bayat et al., 2016)
c.117C>G	p.Phe39Leu	Exon2	Régulation	(Carluccioet al.,2013)

III-9-2 Mutations non-sens et mutations lors de l'épissage

➤ Avec les protéines des troncatures et délétions importantes

Peuvent être causées par des mutations non-sens et d'épissage. Tandis que des mutations non sens résultent en des protéines tronquées à l'extrémité C-terminale, les mutations d'épissage peuvent produire des délétions terminales ou internes, par exemple par saut d'exon (Sarkissian et al., 2011).

➤ les mutations d'insertion or délétion introduisent « frame shifts »

Résultera en des protéines mutantes contenant une séquence de PAH tronquée fusionnée à une séquence non apparentée à l'extrémité C-terminale; de telles protéines sont appelées ici protéines de fusion. Des mutations de décalage de séquence au niveau des résidus N-terminaux au résidu Q383 conduiront à des protéines inactives. En effet, on trouve que de telles protéines mutantes sont toutes associées à la PCU classique. Les mutations C-

terminales au résidu Q383 peuvent indirectement affecter le site actif, interférer avec le repliement, causer l'agrégation, ou former des protéines instables (Jennings et al., 2000).



Figure 27: Pourcentage des formes classiques de PCU selon la localisation des variations du gène de la PAH (Creusot et al., 2013)

IV- L'intérêt d'identification des mutations

L'identification des mutations du gène de la PAH des patients ayant une PCU a deux intérêts :

- le premier est de pouvoir effectuer une corrélation génotype/phénotype dans la mesure où l'enfant est porteur de mutations dont l'effet sur le phénotype est connu. Ceci permet d'espérer une amélioration de la tolérance dans les premières années pour les enfants ayant au moins une mutation dite "faible".
- le second intérêt est lié à l'analyse du caractère BH4-sensible dont on sait qu'il est lié à certaines mutations dont la liste se constitue progressivement. La corrélation génotype/phénotype pour la réponse au BH4 n'est pas parfaite, il a en effet été montré une réponse au BH4 variable chez des patients ayant le même génotype (Feuillet, 2006).

V- Génétique de la transmission de la PCU

La PCU est une maladie génétique transmise selon le mode autosomique récessif. Le gène mis en cause est celui codant pour la phénylalanine hydroxylase.

Pour qu'un enfant naisse avec la maladie, il faut que les deux parents soient porteurs de la mutation. La PCU apparaît quand le gène qui fournit le plan de production de la phénylalanine hydroxylase est défectueux. Tout le monde possède deux gènes codant pour la PAH. Pour que la PCU apparaisse, ces deux gènes doivent être anormaux. Tout sujet possédant un gène défectueux est porteur de la PCU, mais n'en est pas atteint et peut transmettre le gène anormal à ses enfants. Cela signifie que si les deux parents sont porteurs et que l'enfant hérite de deux gènes défectueux, il aura la maladie (Blau et al., 2010).

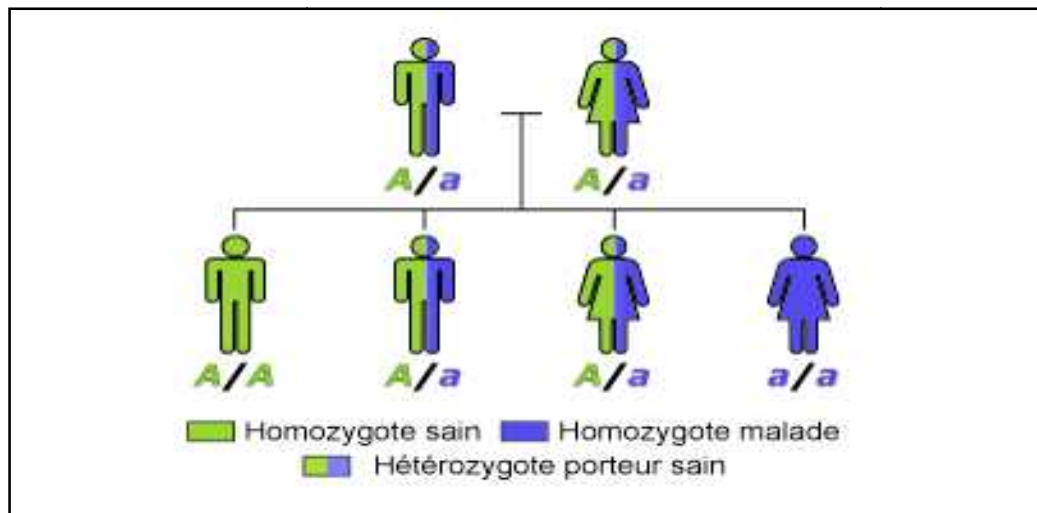


Figure 28:Mode de transmission de la phénylcétonurie(Cournarie, 2011)

VI-Conseil génétique

La phénylcétonurie étant une maladie transmise sur le mode autosomique récessif, le risque de survenue de la maladie chez un autre enfant d'un couple ayant déjà un enfant atteint est de 1 sur 4. Il faut proposer une consultation de génétique aux couples s'interrogeant sur leur avenir reproductif et sur la dimension familiale de la phénylcétonurie. Ils peuvent discuter avec un professionnel des risques de survenue de la maladie chez d'autres enfants et des différentes options qui s'offrent à eux.

Le gène étant connu, le diagnostic prénatal par biologie moléculaire est possible. Le diagnostic préimplantatoire a été réalisé. Cela n'a pas été fait en France, car c'est une pathologie traitable, ce qui fait tout l'intérêt de son dépistage néonatal. De plus, une fois le traitement correctement suivi pendant l'enfance et l'adolescence, les patients ont une vie normale ce qui rend éthiquement très discutable le recours à l'une ou l'autre de ces 2 techniques(Verlinsky et al.,2001).

Matériels

Et

Méthodes

Deuxième partie: Matériels et méthodes

I. Introduction

Les données relatives aux enfants atteints sont collectées à partir de dossiers médicaux des phénylcétonuriques se trouvant dans le service de pédiatrie de l'hôpital de Sétif.

II. Matériels

Différentes techniques et méthodes ont été utilisées pour dépister et analyser la phénylcétonurie

HPLC : La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une forme de chromatographie à colonne qui pompe un mélange d'échantillons ou un analyte dans un solvant (aussi appelé phase mobile) à une pression élevée à travers une colonne avec une garniture chromatographique (phase stationnaire).

LC-MS/MS : La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (en anglais *Liquid Chromatography-mass spectrometry* ou LC-MS) est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances.

IRM cérébral : Ou Imagerie par résonance magnétique est l'une des techniques d'imagerie médicale les plus récentes. Elle permet de visualiser avec une grande précision les organes et tissus mous, dans différents plans de l'espace.

EEG: Electro-encéphalogramme est un examen qui permet l'enregistrement de l'activité cérébrale. L'EEG est absolument indolore.

III. Méthodes

Parmi les 23 cas atteints de la phénylcétonurie trouvés dans le service de pédiatrie de la wilaya de Sétif, on a pris deux familles, ayant des dossiers plus ou moins complets et qui ont au moins un enfant atteint pour faire notre étude; les degrés de rapprochement des parents, la fratrie, les antécédents pathologiques ont été connus par une enquête familiale. Deux cas possibles ; l'un avec une phénylcétonurie typique ou classique et autres avec un déficit au cofacteur de l'enzyme phénylalanine hydroxylases, le BH4 sont à l'étude.

Famille I

1- PCU typique

Il s'agit d'un enfant âgé de 2 ans +15 jours, de sexe féminin, dont le 1^{er} de ses parents non consanguin avec aucun antécédent pathologique, il est admis au service de pédiatrie pour un séjour allant du 07/09/2011 jusqu'à 10/09/2017.

Nombre total de fratrie:00, grossesse signalée de la mère.

Histoire de la maladie

Le début de la symptomatologie remonte dès les 1^{ers} mois de la vie, dont la mère ait remarqué que son enfant, différent aux enfants du même âge. Dont les acquisitions psychomotrices ce la motivé à consulter chez plusieurs médecins dont plusieurs bilans radiologiques ont été demandés, et ce n'est qu'au mois de juillet 2017 où le diagnostic de la phénylcétonurie était posé.

Tableaux VIII:Tableau clinique I de l'enfant malade 1

Diagnostics cliniques	Résultats
Examen général	Microcranie. Cheveux blonds. Teint clair.
Examen neurologique	Force musculaire.
Examens psychomoteurs	Marche non acquise. Retard de langage.
Examen ostéo-articulaire	Pas de déformation ni malformation.
Examen uro-génital	Sans anomalies de la différenciation sexuelle.
IRM	Microcranie et retard mental.
EEG	Microcéphale et retard mental.
Dosage biochimique de la phénylalanine par l' HPLC.	Phénylalaninémie = 2808 $\mu\text{mol/l}$

Famille II

2- Déficit en cofacteur BH4:

Il s'agit de l'enfant âgé de 4 ans et 1 mois de sexe masculin, le 1^{er} d'un mariage consanguin, avec aucun antécédent pathologique.

Nombre total de fratrie: sœur de 18 mois avec un retard de langage non associé à la PCU.

Histoire de la maladie:

Le début de la symptomatologie semble remarquable à 5 mois, où son médecin rééducateur à constaté un changement de comportement (il suspecté des troubles autistiques), il a demandé un avis de pédago psychiatrique où ils ont demandé un phénylalaninémie.

Tableau IX: Tableaux clinique de l'enfant malade de la famille 2

Diagnostic clinique	Résultats
Examen général	Peau blanche. Cheveux clairs.
Examen neurologique	Enfant détaché de son entourage. Attitudes autistique. Insensibilité aux différentes stimulations. N'accroche pas son regard. Agressivité.
Examen psychomoteurs	Troubles de comportement. Retard de développement psychomoteur (langage, position d'assise, position debout, se tourne le ventre sur le dos).
Examen ostéo-articulaire	Malformations (pieds plats bilatéral, pieds plats valgus gauches).
Examen respiratoire	Pas de signes de détresse respiratoire.
Examen cardio-vasculaire	Pas de souffles inbruits surajoutés. Rythme régulier.
Examen hépato-digestif	Abdomen souple. Pas de troubles de transit.
Examen uro-congénital	Organes génitaux externes de sexe masculin.
Examen IRM	Retard mental et microcéphalie. Atrophie calleuse. Elargissement bénin des espaces arachnoïdiens.
Dosage biochimique de la phénylalanine par l'HPLC.	Phénylalaninémie = 2396 $\mu\text{mol/l}$. Après le régime PHE=2107 $\mu\text{mol/l}$.

Troisième partie : Résultats et discussions

1- Epidémiologie

Vingt-trois (23) dossiers de cas de phénylcétonuriques ont été trouvés; d'âges différents, de sexes, et avec des hyperphénylalaninémie variables. Nous avons enregistré des cas au sein de même familles et autres de familles différentes.

Ces 23 cas phénylcétonuriques ont été trouvés dans la wilaya de Sétif, dont la plupart des cas sont les phénylcétonuriques typiques avec seulement un cas de déficit en Cofacteur BH4.

En 2014: 7 patients atteints de la phénylcétonurie 2 filles (même famille), 5 garçon (2 de la même famille et 3 de familles différentes).

En 2016/2017: 17 patients atteints 6 filles (2 filles même famille et 4 de familles différentes), 11 garçon.

En 2017: 23 patients phénylcétonuriques 8 filles et 15 garçons.

2- Etude biochimique et clinique

❖ Type de phénylcétonurie

Famille I

L'enfant de la famille I, dont le dosage de la phénylalanine par la méthode LC-MS-MS (chromatographie couplée à la spectroscopie de masse) révèle un taux de PHE =2808 $\mu\text{mol/l}$ et devant le tableau clinique I qui montre clairement un retard psychomoteur, et un morphotype particulier.

L'analyse de son dossier médical nous permet de voir le régime qu'il a suivi et quel type d'hyperphénylalaninémie s'agit-il.

Le type de l'HPA a été identifié grâce à un étude comparative avec les résultats publiés dans l'article (**Kayaalp et al., 1997**), dont la concentration de la phénylalanine est $>1000 \mu\text{M}$ est associée avec un risque élevé de développement cognitif et psychomoteur ont confirmés le type de PCU en fonction de la concentration plasmatique de PHE, les auteurs de ce travaille ont classé ce type d'hyperphénylalaninémie en phénylcétonurie typique ou classique. Lorsque le patient suit un régime normal, le phénotype est plus comme HPA non-PCU et est apparemment associé avec un risque beaucoup plus faible de développement cognitif altéré. Ce qui est compatible avec les résultats obtenus par analyse de dossier médicale de l'enfant atteint de la famille I qui a aussi une PCU-typique.

Famille II

Un dosage biochimique de phénylalaninémie utilisant l'HPLC pour l'enfant atteint de la famille II montre un taux de Phe =2396 $\mu\text{mol/l}$; le premier diagnostic montre qu'il s'agit d'une phénylcétonurie typique, le tableau clinique révèle que même après un régime alimentaire le taux de Phe reste élevé =2107 $\mu\text{mol/l}$. Un groupe scientifique (**Bardelli et al., 2002**) a été réuni, et ils ont prouvé que lorsque la phénylalaninémie reste élevée même après un suivi de régime pauvre en phénylalanine, le déficit ne se situe pas au niveau de l'enzyme mais au niveau de son cofacteur BH4 et le seul traitement possible c'est un médicament qui va remplacer ce déficit et rendre le taux de phe dans des valeurs normales.

Prise en charge:

L'objectif c'est de rendre le taux de Phe entre 2-5 mg/dl (120-300 $\mu\text{mol/l}$).

✓ Corrélation Génotype/Phénotype

Une étude comparative lie le type de mutation à la concentration de la phénylalanine faite par une équipe de recherche (**Munnich et al., 1982**) nous donne les mutations possibles dans le cas d'un phénylcétonurie typique.

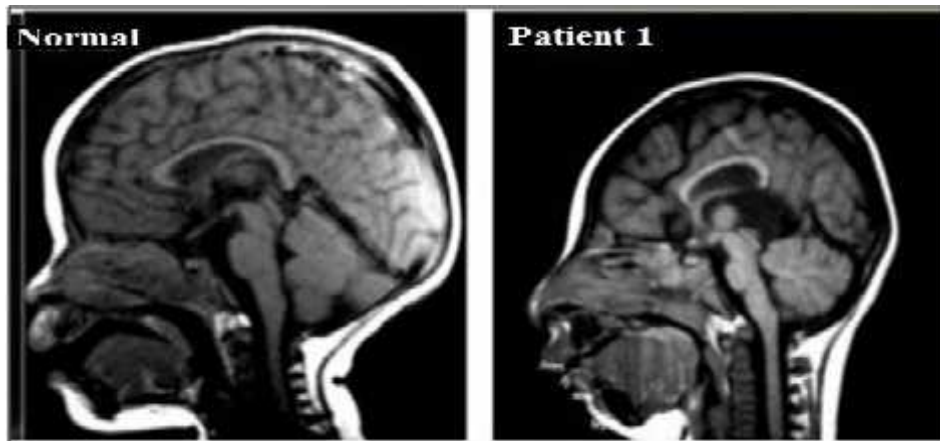
Une autre recherche a été réalisée par (**Lyonnet et al., 1988**) en Algérie sur un malade dont les parents sont des cousins germains qui est du même profil de la famille II de notre étude, a montré l'existence d'une mutation très fréquente dans la population algérienne. Cette mutation a été recherchée parmi 72 gènes mutants et a été exclusivement retrouvée chez des patients atteints d'une forme variante de déficit en hydroxylase.

Cette recherche a été menée par hybridation entre des sondes oligonucléotidiques (normales ou mutées) et l'ADN des patients amplifié par méthode PCR (polymerase chain réaction)(**Saiki et al., 1985**). La sonde mutante n'a hybridé qu'avec l'ADN amplifié de six patients, tous porteurs de l'haplotype 38 du gène. Aucune hybridation n'a été détectée avec des allèles mutants d'autres haplotypes, ce qui suggère un fort déséquilibre de liaison entre la mutation 280 (glu \rightarrow lys) et l'haplotype 38 du gène de *PAH*.

Une autre étude faite par une équipe de recherche en Tunisie(**Khemir et al., 2016**), Les auteurs ont cherché à explorer l'autisme chez 15 patients Tunisiens et 4 Algériens de phénylcétonurie, Cinq exons du gène de la phénylalanine hydroxylase (7, 6, 10, 11 et 5) ont été amplifiés par PCR et directement séquencés. Six mutations ont été identifiées: p.E280K, p.G352Vfs, IVS10ntll, p.I224T, p.R261Q et p.R252W.

Tableaux X:Relation entre la concentration de la phénylalanine, diagnostic et type de mutation

Motif du diagnostic + PHE>1200 µmol/l	Allèle 1	Allèle 2
-Retard mental	c44-45delCT	*IVS 10-11G > A
-Développement psychomoteur retardé	c163 delT	IVS10-11G > A
- Retard mental et comportement autistique	R158Q	IVS 10-11G > A
- Retard mental	R261Q	IVS 10-11G > A
-Dépistage néonatal	P281L (c842C > T)	IVS10-11G > A
- Retard mental et comportement autistique	P281R (c842 C>G)	IVS10-11G > A
- Développement psychomoteur retardé	IVS11-8G > A	IVS10-11G > A
- Dépistage néonatal	IVS11-8G > A	IVS10-11G > A
- Dépistage néonatal	R261X	R261Q
- Dépistage néonatal	R261X	R261Q
- Dépistage néonatal	(c781C > T)	(c782G > A)
- Développement psychomoteur retardé	(c163 del T	R158Q
- Dépistage néonatal	P281L (c842C > T)	L287V c859 C>G

Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)✓ **Effet de l'excès de la phénylalanine sur les matières blanches dans le cerveau****Figure29: Cerveau d'un enfant normal et d'un phénylcétonurique par IRM**

La figure ci-dessous montre que les matières blanches dans le cerveau des patients atteints (patient 1) de PCU sont très différentes des personnes normales. Une étude comparative sur l'effet de phe sur le développement du cerveau (Yao and Yang, 2010), l'accumulation de Phe qui cause par conséquent une absence de la tyrosine qui est un précurseur de

neurotransmetteurs dans le cerveau, la concentration élevée de phe peut endommager les matières blanches dans le cerveau qui conduisent à un retard mental et une microcéphale.

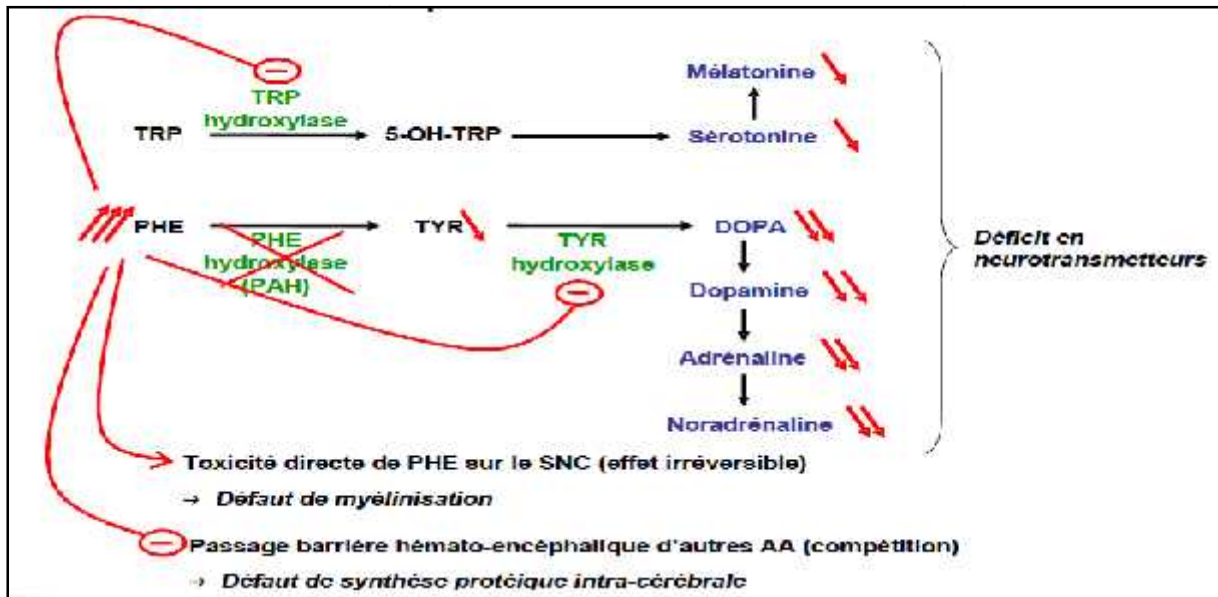


Figure 30: Effet de métabolisme anormal de la phénylalanine sur le cerveau

Phe: phénylalanine, Tyr: tyrosine, SNC: système nerveux central, PAH/ phénylalanine hydroxylase

Les neurones du cerveau sont protégés par ces graisses et la matière protéique appelée la gaine de myéline. Cela donne l'apparence blanche de cette partie du cerveau, donc on l'appelle la matière blanche.

La myéline agit comme une couche d'isolation qui soulève les axones des neurones, de sorte que les impulsions nerveuses peuvent sauter entre les bourrelets isolés entre les myélines sur les axones. Par conséquent, il accélère le transfert des impulsions nerveuses, par conséquent la vitesse de traitement du cerveau est très rapide et le cerveau fonctionne très efficacement.

Cependant, chez les patients atteints de PCU, l'excès de Phe est toxique pour le cerveau. Comme il endommage la gaine de myéline des cellules nerveuses, dont les axones ne seront pas correctement isolés. Par conséquent, le processus d'information tend à devenir très lent et peut également affecter le transport de l'information.

En conséquence, les patients atteints de PCU ont tendance à réagir beaucoup plus lentement que les personnes normales, et ils ont de la difficulté à se concentrer, à penser plus lentement et à réagir plus lentement.

✓ Evolution de la pathologie à l'âge adulte

Des signes neuropsychiatriques et des anomalies de l'IRM peuvent survenir chez les patients atteints de phénylcétonurie à l'âge adulte. Nous décrivons les caractéristiques

cliniques et radiologiques d'un patient phénylcétonurique et nous discutons de l'avantage de poursuivre le régime à l'âge adulte en comparant avec l'étude de (Daelman et al., 2014).

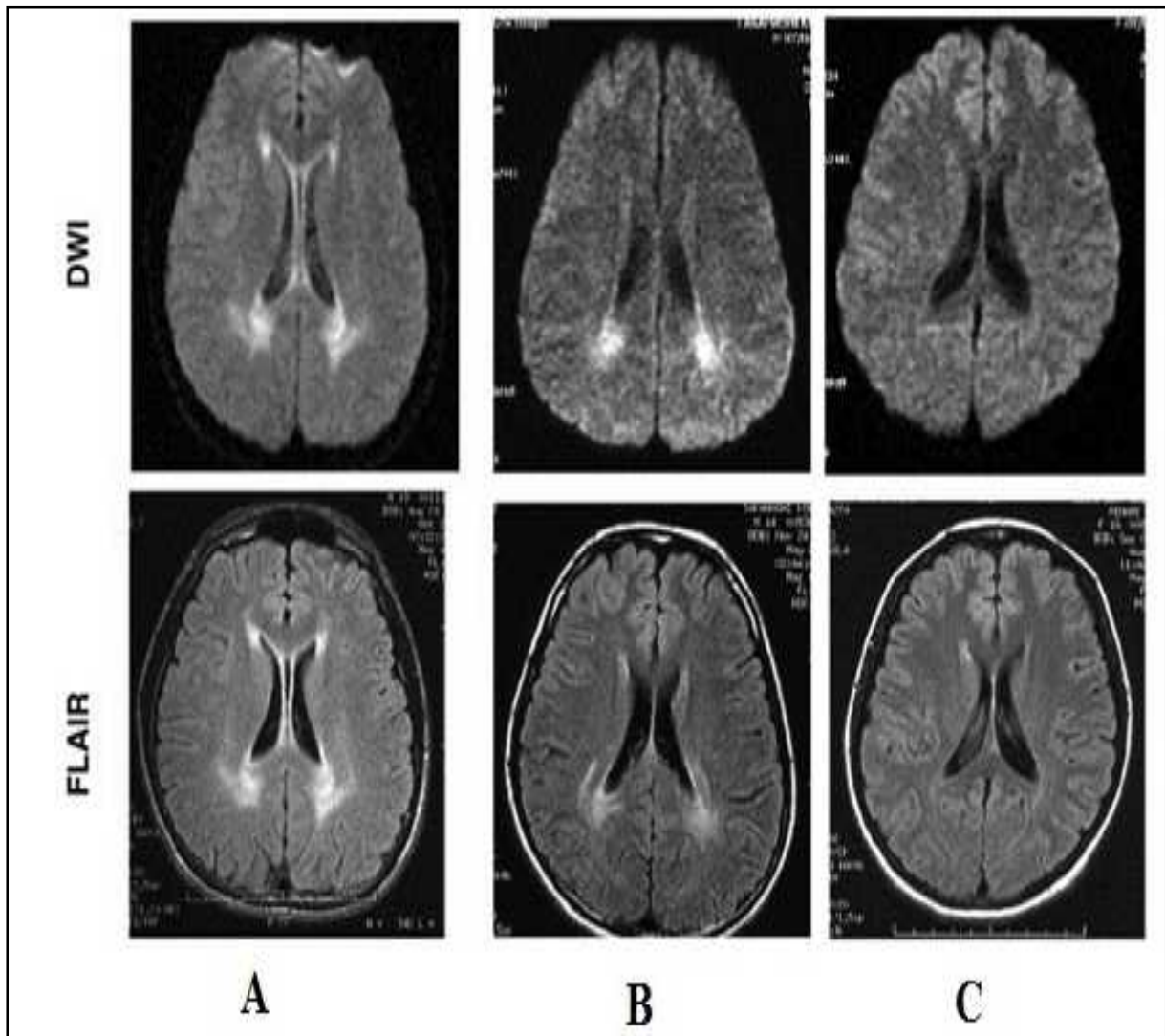


Figure 31: Conséquence de différentes concentrations de phe sur le cerveau d'un adulte phénylcétonurique.

DWI: Diffusion-Weighted Imaging (Imagerie à diffusion pondérée)

FLAIR: FLuid Attenuated Inversion Recoder (Récupération d'inversion atténuée Fluide)

Phénylalanine sérique élevée chez le patient adulte atteint de phénylcétonurie (PCU) provoque des problèmes neuropsychologiques qui peuvent être résolus par un régime alimentaire restreint par la phénylalanine. Par conséquent, le patient PCU doit continuer à suivre un régime restreint à la phénylalanine à vie.

Les études IRM ont montré une intensité de signal élevée dans la substance blanche (une leuco encéphalopathie: lésions dans la matière blanche) profonde sur les images pondérées en DWI et FLAIR de patient atteint de PCU avec phénylalanine sérique élevée (A)

et une lésion aussi modérée (B).Après reprise du régime, une amélioration clinique est constatée, cependant, le niveau optimal de phénylalanine dans le sérum devrait être de 500 $\mu\text{mol} / \text{L}$ ou moins plus tard pour que le cerveau soit sans danger (C).

Donc la surveillance de la phénylalaninémie à l'âge adulte permettrait d'éviter les complications neuropsychiatriques grâce à la reprise du régime.

Electroencéphalographie (EEG)

Une variété d'anomalies électroencéphalographique (EEG) a été trouvée.

Les principales présentations cliniques étaient le retard du développement global, les symptômes d'hyperactivité, les convulsions et les caractéristiques autistiques avaient des résultats anormaux comme des décharges épileptiques généralisées, des décharges épileptiques focales.

✓ **Anomalies de la substance grise**

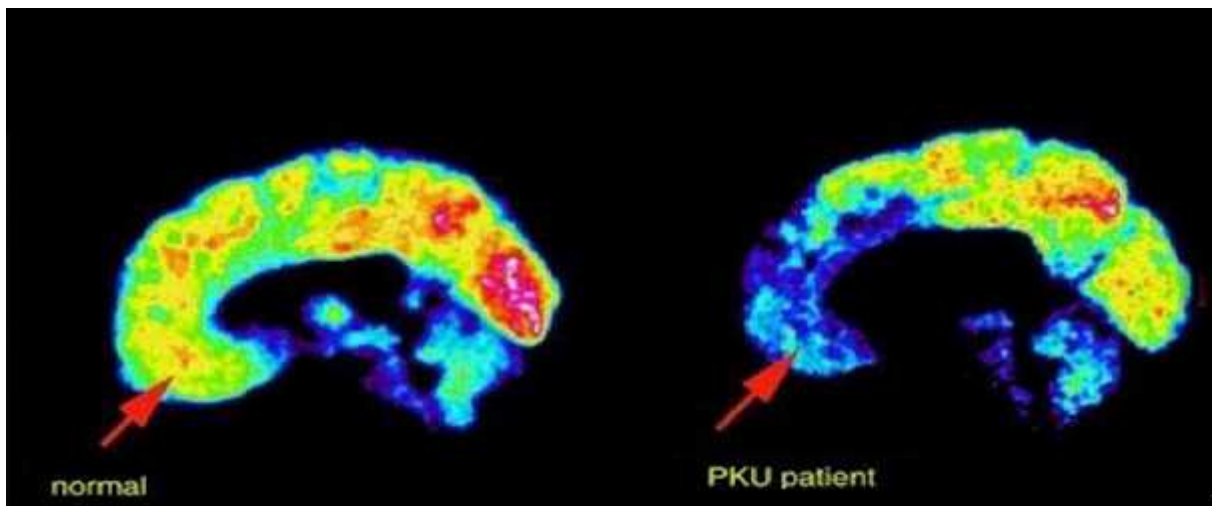


Figure 32: La substance grise du cerveau d'un adulte normal et d'un phénylcétonurique observée par électroencéphalographie.

PKU : Phenylketonuria

Chez le phénylcétonurique la perte de substance grise est la plus importante dans le cortex moteur et pré-moteur et donc une augmentation du volume de la matière grise est observée dans les régions vésicales.

Une comparaison avec une étude Egyptienne (**Sadek et al., 2013**) ; révèle que les modifications de l'EEG s'accroissent (quantitativement) en même temps que le taux sanguin de phénylalanine augmente, et diminuent après arrêt du traitement; ce qui suggère que les altérations EEG constituent une mesure du degré d'intoxication par la phénylalanine ou ses

métabolites. Les données EEG paraissent donc utiles dans une décision d'arrêter un régime en cas de phénylcétonurie.

Nous avons conclu que la phénylcétonurie non traitée représente toujours un fardeau important pour le développement des enfants et la fonction mentale.

LC MS-MS

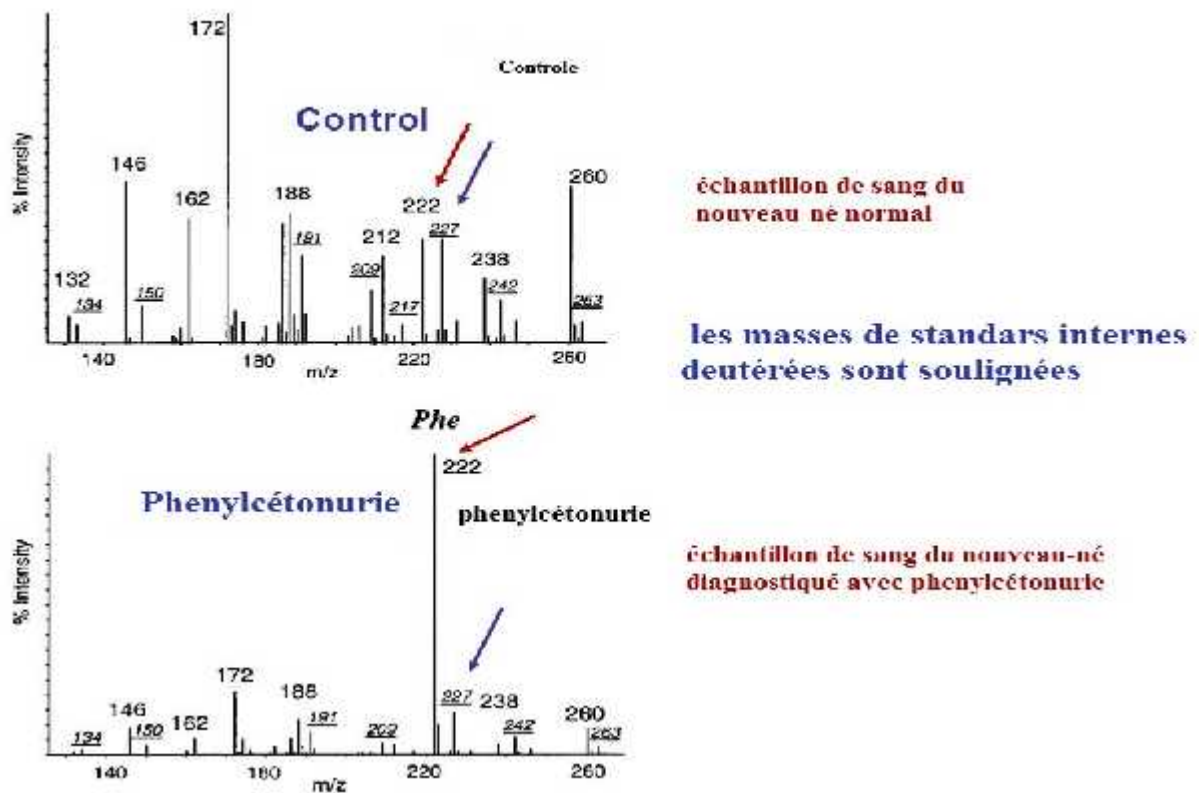
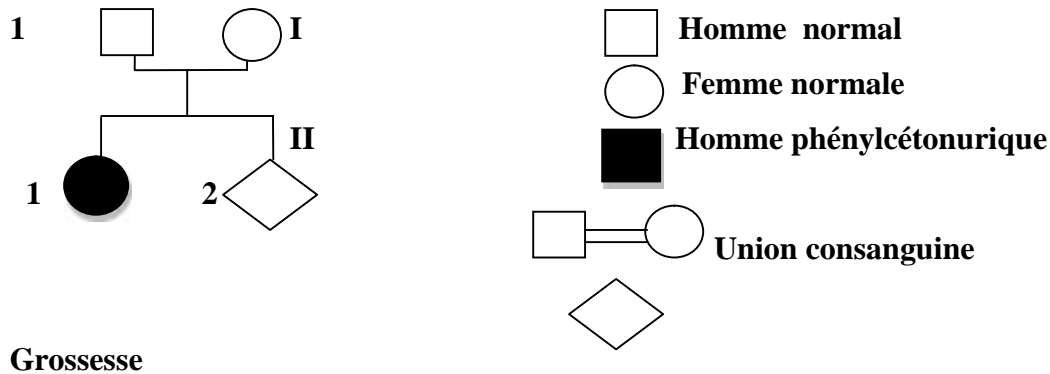


Figure 33: Dosage de la phénylalanine par LC MS-MS chez un nouveau-né normal et chez un phénylcétonurique

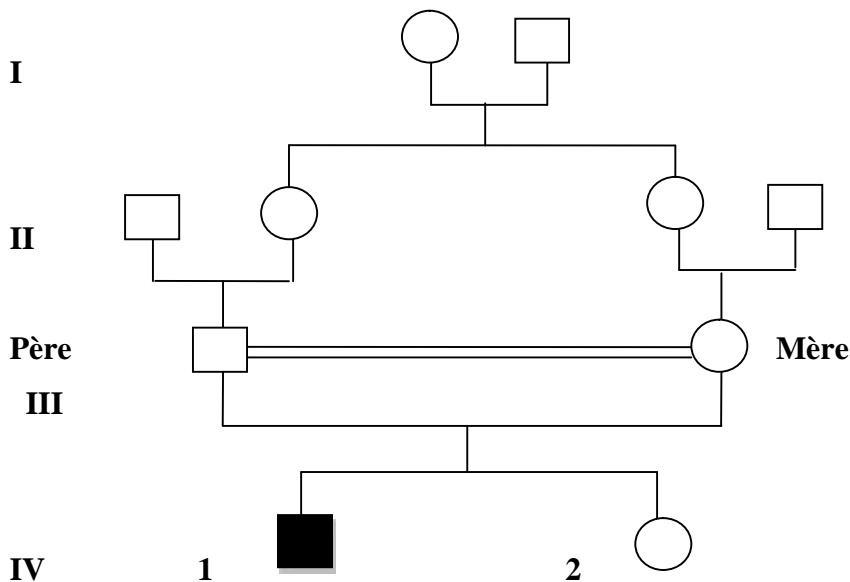
3- Etude génétique

3.1 Etablissement des arbres généalogiques

Famille I



Famille II



3.2 Transmission de la maladie et risque génétique

La population de Sétif est de 1 489 495(<http://fr.db-city.com/Algerie--Sétif>) avec un nombre de 23 atteints de phénylcétonurie en 2017.

Si les phénylcétonuriques apparaissent avec une fréquence de $23/1489495$ qui est égale à $1/64760$ au sein de cette population lorsque chacun des parents donne à l'enfant l'allèle a, la probabilité d'apparition d'un phénylcétonurique vaut donc la carré de la fréquence d'apparition de l'allèle a.

On calcule dès lors la fréquence de l'allèle a dans la population en prenant la racine carrée de la fréquence des enfants atteints.

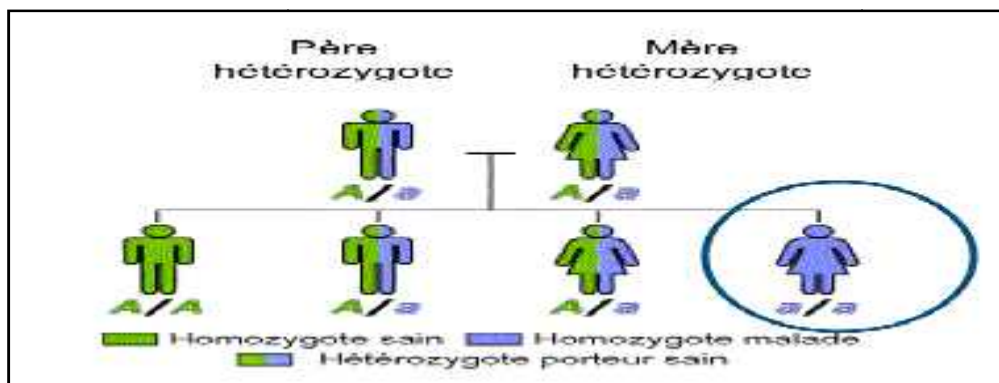
$$q = \sqrt{1/64760} = 0.0039$$

L'allèle A présente donc une fréquence de $1 - 0.0039 = 0.9961$

Les différents génotypes apparaissent donc avec une fréquence de :

- $P(AA) = 0.9961 * 0.9961 = 0.9922 = D$
- $P(Aa) = 2 * 0.9961 * 0.0039 = 0.0077 = H$
- $P(aa) = 0.00000152 = R$

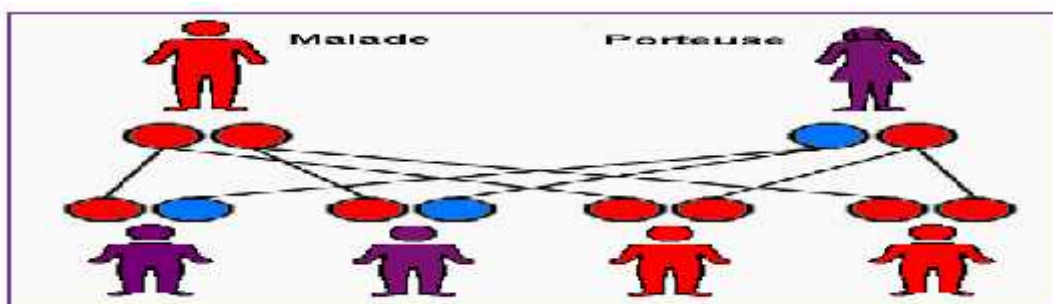
L'analyse des arbres généalogiques des familles I et II permet alors de confirmer le mode de transmission de cette maladie cité par (Blau et al., 2010) dans la bibliographie ; les parents ne présentent pas la maladie, ils ont des enfants atteints ; famille I (II-1) et famille II (IV-1). C'est donc que l'allèle responsable est récessif est qu'il était porté par chacun des parents. En outre, on peut affirmer que sa transmission est indépendante du sexe car dans cette hypothèse le père serait obligatoirement atteint (Xa/Y) puisque sa fille présenterait le génotype Xa/Xa . Comme il ne l'est pas, c'est donc qu'il est porteur sain et que le gène se trouve sur un chromosome non sexuel.



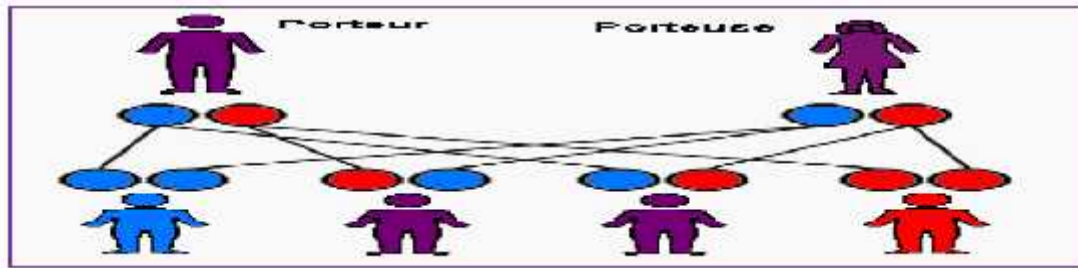
3.3. Le calcul de risque dans la population étudiée

Parmi les différents couples d'individus possibles formés au hasard, seuls les suivants peuvent avoir des phénylcétonuriques et autres normaux.

- **Le couple Aa X aa apparaît avec une fréquence de: $2 * 0.0077 * 0.0000152 = 0.000023\%$**
(« 2 » car le male peut être Aa et la femelle aa ou inversement).
- **Le couple Aa X Aa apparaît avec une fréquence de: $0.0077 * 0.0077 = 0.00059\%$.**



La probabilité théorique d'avoir des enfants atteint pour le couple 1 est égale à $1/2$.



La probabilité théorique 2 d'avoir des enfants atteint pour le couple est égale à $1/4$

En multipliant, pour chacun des couples, la probabilité d'avoir des enfants atteints, par la fréquence théorique d'apparition du couple correspondent.

$$50\% * 0.000023\% + 25\% * 0.00052\% = 0.0145\%$$

Un couple à risque a donc 0.0145% de chance de voir le jour dans cette population.

4- Conseil génétique

La probabilité pour qu'un couple formé par un **homme normal X une femme malade** d'avoir des enfants sains est égale:

- **Sont hétérozygotes Aa** avec une probabilité = nombre de cas favorable par rapport de cas possible de $2pq/2pq+p^2 = 0.0077/0.0077+0.9922=0.77\%$
- **Sont homozygotes AA** sont présentes avec une probabilité = nombre de cas favorable par rapport de cas possible de $p^2/p^2+2pq=0.9922/0.9922+0.0077=0.993=98.31\%$

Le malade ne pouvant être malade que par son génotype aa, il apparait deux types de couples:

- **Le couple Aa X aa avec une probabilité de 0.77%**
- **Le couple AA X aa avec une probabilité de 98.31%**

Pour le premier couple, seulement 50% des enfants sont sains, pour le second couple tous les enfants sont des porteurs sains.

Donc la probabilité pour un couple normal et malade d'avoir des enfants sains est donc la somme de ces probabilités. Pour chacun des couples possibles, pondérées par la fréquence d'apparition théorique des couples respectifs:

$$2*0.0077*0.5+0.9922*1 = 0.9999=99.99\% \text{ et } 0.01\% \text{ d'avoir des enfants atteints}$$

Un mariage entre **un homme normal X une femme normale:**

- **La fréquence des hétérozygotes Aa** = nombre de cas favorable par rapport de cas possible de $2pq/2pq+p^2 = 0.0077/0.0077+0.9922=0.0077$
- **La fréquence des homozygotes AA** = nombre de cas favorable par rapport de cas possible de $p^2/p^2+2pq = 0.9922/0.9922+0.0077=0.9931$

Trois couples peuvent exister:

- **Le couple Aa X Aa avec une probabilité de $0.0077 \times 0.0077 = 0.0059\%$**
- **Le couple AA X Aa avec une probabilité de $2 \times 0.9922 \times 0.0077 = 1.5\%$**
- **Le couple AA X AA avec une probabilité $0.9922 \times 0.9922 = 98.44\%$**

Pour le premier couple, 75% des enfants sont sains, pour le second et le troisième couple tous les enfants sont sains.

Donc la probabilité pour un couple constitué d'un homme normal et d'une femme normale d'avoir des enfants sains est donc la somme de ces probabilités. Pour chacun des couples possibles, pondérées par la fréquence d'apparition théorique des couples respectifs:

$0.75 \times 0.000059 + 1 \times 0.015 + 1 \times 0.9844 = 0.999 = 99.9\%$ et 0.1% des enfants malades

La probabilité d'avoir des enfants sains est élevée dans cette population car le pourcentage de l'homozygotie >>> pourcentage de l'hétérozygotie, plus que cette maladie est récessive.

Pour un allèle muté délétère autosomique récessif a de fréquence q, le risque pour un enfant consanguin d'être homozygote pour cet allèle est: $q \times Cc$ alors qu'il est de q^2 pour les enfants de parents non consanguins. Le coefficient de consanguinité (Cc ou F) est la probabilité pour que les deux gènes allèles que possède un individu en un locus donné soient identiques par descendance → cela suppose un ancêtre (A) commun aux parents P et M de l'individu (III-2) de la famille II étudiée.

Dans la famille II les parents sont des cousins germains; pour un gène muté à transmission autosomique récessif de fréquence $q = \sqrt{1/64760} = 1/255$

*pour la population générale: $q^2 = 1/64760$

*pour I, il est, par la formule: $q \times Cc = 1/255 \times 1/16 = 1/4080 = 0.00024$

Le risque de cette maladie chez l'enfant (IV-2), par rapport à la population générale, est accru du facteur

$$q \times Cc / q^2 = Cc / q \text{ ici } = 1/16 / 1/255 = 15.93$$

En revanche, pour **la famille I**, il est possible de calculer le risque pour l'enfant (II-2).

Les parents ne présentent pas la maladie et ils ont un premier enfant malade, donc sont obligatoirement des hétérozygotes. La probabilité que le 2^{ème} enfant soit malade est égale à :

Probabilité que le 1^{er} parent soit hétérozygote X Probabilité que le 2^{ème} parent soit hétérozygote X la probabilité théorique.

$$= 2pq \times 2pq \times 1/4 = 0.0077 \times 0.0077 = 0.00166\%$$

CONCLUSION

Un dépistage systémique permettra la prise en charge rapide des nouveau-nés phénylcétonuriques, réduisant ainsi au maximum les effets délétères de l'HPA sur les structures cérébrales, par la mise en place d'un régime pauvre en Phe. Ce régime prend une place centrale dans la vie des patients qui doivent s'accommoder de sa rigueur.

Un conseil génétique doit être donné au couple à risque et les femmes phénylcétonuriques doivent bénéficier d'un suivi accru lorsqu'elles envisagent une grossesse et doivent reprendre un régime adapté quelques semaines avant et pendant la grossesse pour limiter la toxicité fœtale.

Notre étude montre d'après les fréquences alléliques trouvées dans la population étudiée, un taux d'hétérozygotes H relativement faible par rapport aux homozygotes D sains, et une corrélation génotype/phénotype montre que la mutation 280 (glu → lys) c'est la plus fréquente dans la population algérienne et en Afrique du Nord.

Cette maladie est de transmission récessive autosomique donc un risque élevé dans les familles apparentées par rapport à la population générale car le risque relatif d'être porteurs de mutations homozygotes est important.

Une surveillance de la phénylalaninémie à l'âge adulte permettrait d'éviter les complications neuropsychiatriques grâce à la reprise du régime.

Pourtant, la faible plainte des patients phénylcétonuriques à ce régime et les complications qui y sont associées ont conduit les scientifiques à chercher de nouvelles alternatives à ce traitement. Ces dix dernières années ont été très productives en traitements potentiels innovants pour la PCU, avec notamment le développement et l'autorisation récente de l'utilisation du KUVAN pour traiter certains patients.

De plus, d'autres traitements potentiels sont à un stade de développement avancé, parmi lesquels certains sont prometteurs pour le traitement des patients ne pouvant pas être traités par le KUVAN. Par ailleurs, en plus du bénéfice direct que ces traitements potentiels pourraient apporter aux patients phénylcétonuriques, ils pourront également permettre de développer d'autres traitements pour beaucoup d'autres maladies métaboliques.

Références bibliographiques

- Abadie, V., Berthelot, J., Feillet, F., Maurin, N., Mercier, A., de Baulny, H. O., & de Parscau, L. (2005). Consensus national sur la prise en charge des enfants dépistés avec une hyperphénylalaninémie. *Archives de Pédiatrie*, *12*(5), 594–601.
- Aldámiz-Echevarría, L., Llarena, M., Bueno, M. A., Dalmau, J., Vitoria, I., Fernández-Marmiesse, A., Gil, D. (2016). Molecular epidemiology, genotype–phenotype correlation and BH 4 responsiveness in Spanish patients with phenylketonuria. *Journal of Human Genetics*, *61*(8), 731.
- AulehlaScholz, C., & Heilbronner, H. (2003). Mutational spectrum in German patients with phenylalanine hydroxylase deficiency. *Human Mutation*, *21*(4), 399–400.
- Bandon, D., Nancy, J., Prévost, J., Vaysse, F., & Delbos, Y. (2005). Apport de l’anesthésie générale ambulatoire pour les soins buccodentaires des enfants et des patients handicapés. *Archives de Pédiatrie*, *12*(5), 635–640.
- Bardelli, T., Donati, M. A., Gasperini, S., Ciani, F., Belli, F., Blau, N., & Morrone, A. (2002). Two novel genetic lesions and a common BH 4 -responsive mutation of the PAH gene in Italian patients with hyperphenylalaninemia, *77*, 260–266.
- Baturina, O. A., Tupikin, A. E., Lukjanova, T. V, Sosnitskaya, S. V, & Morozov, I. V. (2014). Pah and qdpr deficiency associated mutations in the novosibirsk region of the russian federation: Correlation of mutation type with disease manifestation and severity. *Journal of Medical Biochemistry*, *33*(4), 333–340.
- Bayat, A., Yasmeen, S., Lund, A., Nielsen, J. B., & Møller, L. B. (2016). Mutational and phenotypical spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Denmark. *Clinical Genetics*, *90*(3), 247–251.
- Belostotsky, R., Ben-Shalom, E., Rinat, C., Becker-Cohen, R., Feinstein, S., Zeligson, S., Frishberg, Y. (2011). Mutations in the mitochondrial seryl-tRNA synthetase cause hyperuricemia, pulmonary hypertension, renal failure in infancy and alkalosis, HUPRA syndrome. *The American Journal of Human Genetics*, *88*(2), 193–200.
- Bessman, S. P., Williamson, M. L., & Koch, R. (1978). Diet, genetics, and mental retardation interaction between phenylketonuric heterozygous mother and fetus to produce nonspecific diminution of IQ: Evidence in support of the justification hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *75*(3), 1562–1566.
- Bi, F. G. F., Meite, A., Dally, T., Ouattara, H., Kouame, K. G., & Kati-Coulibaly, S. (2015). Étude de la qualité biochimique et nutritionnelle de la poudre séchée d’Embrasai oyemensis, chenilles consommées au Centre-Ouest de la Côte d’Ivoire. *Journal of*

- Applied Biosciences*, 96, 9039–9048.
- Biglari, A., Saffari, F., Rashvand, Z., Alizadeh, S., Najafipour, R., & Sahmani, M. (2015). Mutations of the phenylalanine hydroxylase gene in Iranian patients with phenylketonuria. *SpringerPlus*, 4(1), 709–713.
- Blau, N., & Erlandsen, H. (2004). The metabolic and molecular bases of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency, 82, 101–111.
- Blau, N., van Spronsen, F. J., & Levy, H. L. (2010). Phenylketonuria. *The Lancet*, 376(9750), 1417–1427.
- Bodamer, O. A. (2010). Dépistage de la phénylcétonurie. *Annales Nestlé (Ed. Française)*, 68(2), 55–59.
- Campbell, A. M. (2003). Public access for teaching genomics, proteomics, and bioinformatics. *Cell Biology Education*, 2(2), 98–111.
- Camp et. (2014). Phenylketonuria Scientific Review Conference: state of the science and future research needs. *Molecular Genetics and Metabolism*, 112(2), 87–122.
- Carluccio, C., Fraternali, F., Salvatore, F., Fornili, A., & Zagari, A. (2013). Structural features of the regulatory ACT domain of phenylalanine hydroxylase. *PloS One*, 8(11), e79482.
- Chen, K.-J., Chao, H.-K., Hsiao, K.-J., & Su, T.-S. (2002). Identification and characterization of a novel liver-specific enhancer of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Human Genetics*, 110(3), 235–243.
- Chen, Y., Jia, H., Chen, Z., Song, J., Liang, Y., Pei, J., ... Liu, G. (2015). Mutational spectrum of phenylketonuria in Jiangsu province. *European Journal of Pediatrics*, 174(10), 1333–1338.
- Chien, Y., Chiang, S., Huang, A., Chou, S., Tseng, S., Huang, Y., & Hwu, W. (2004). Mutation spectrum in Taiwanese patients with phenylalanine hydroxylase deficiency and a founder effect for the R241C mutation. *Human Mutation*, 23(2), 206.
- Christ, S. E. (2003). Asbjorn Folling and the Discovery of Phenylketonuria. *Journal of the History of the Neurosciences*, 12(1), 44–54.
- Claude, U., & Lyon, B. (2012). Creative commons : Paternité - Pas d'utilisation Commerciale -, 0–160.
- Cournarie, A. (2011). La phénylcétonurie: du dépistage aux nouvelles thérapeutiques.
- Creusot, N., Budzinski, H., Balaguer, P., Kinani, S., Porcher, J.-M., & Aït-Aïssa, S. (2013). Effect-directed analysis of endocrine-disrupting compounds in multi-contaminated sediment: identification of novel ligands of estrogen and pregnane X receptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(8), 2553–2566.

- Daelman, L., Sedel, F., & Tourbah, A. (2014). Progressive neuropsychiatric manifestations of phenylketonuria in adulthood. *Revue Neurologique*, 170(4), 280–287.
- De Montis, A., Luppi, P., Perrier, J.-B., Catelan, N., Bénétiau, J., & Sourzat, L. (2017). Jurisprudence du Conseil constitutionnel. *Revue Française de Droit Constitutionnel*, (1), 197–254.
- Denost Lemasson, D. (1989). Interet du depistage de la phenylcetonurie: a propos de trois observations. Limoges.
- DiLella, A. G., Kwok, S. C. M., Ledley, F. D., Marvit, J., & Woo, S. L. C. (1986). Molecular structure and polymorphic map of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Biochemistry*, 25(4), 743–749.
- DiLella, A. G., Ledley, F. D., Rey, F., Munnich, A., & Woo, S. L. C. (1985). Detection of phenylalanine hydroxylase messenger RNA in liver biopsy samples from patients with phenylketonuria. *The Lancet*, 325(8421), 160–161.
- DiLella, A. G., Marvi, J., Brayton, K., & Woo, S. L. C. (1987). An ammo-acid substitution involved in phenylketonuria is in linkage disequilibrium with DNA haplotype 2. *Nature*, 327(6120), 333.
- DiLella, A. G., Marvit, J., Lidsky, A. S., Güttler, F., & Woo, S. L. C. (1986). Tight linkage between a splicing mutation and a specific DNA haplotype in phenylketonuria. *Nature*, 322(6082), 799.
- Dobrowolski, S. F., Ellingson, C., Coyne, T., Grey, J., Martin, R., Naylor, E. W., Levy, H. L. (2007). Mutations in the phenylalanine hydroxylase gene identified in 95 patients with phenylketonuria using novel systems of mutation scanning and specific genotyping based upon thermal melt profiles. *Molecular Genetics and Metabolism*, 91(3), 218–227.
- Dockhorn-Dworniczak, B., Dworniczak, B., Brömmelkamp, L., Büllés, J., Horst, J., & Böcker, W. W. (1991). Non-isotopic detection of single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP): a rapid and sensitive technique in diagnosis of phenylketonuria. *Nucleic Acids Research*, 19(9), 2500.
- Durand, G., & Beaudeau, J.-L. (2011). *Biochimie médicale: Marqueurs actuels et perspectives*. Lavoisier.
- Dworniczak, B., Wedemeyer, N., & Horst, J. (1991). PCR detection of the BglII RFLP at the human phenylalanine hydroxylase (PAH) locus. *Nucleic Acids Research*, 19(8), 1958.
- Eisensmith, R. C., & Woo, S. L. (1992). Updated listing of haplotypes at the human phenylalanine hydroxylase (PAH) locus. *American Journal of Human Genetics*, 51(6), 1445.

- Fang, B., Eisensmith, R. C., Li, X. H., Finegold, M. J., Shedlovsky, A., Dove, W., & Woo, S. L. (1994). Gene therapy for phenylketonuria: phenotypic correction in a genetically deficient mouse model by adenovirus-mediated hepatic gene transfer. *Gene Therapy*, *1*(4), 247–254.
- Feillet, F. (2006). Phénylcétonurie. *La Presse Médicale*, *35*(3), 502–508.
- Feillet, F., & Huet, F. (2011). Dépistage néonatal et maladies métaboliques. *Maladies Métaboliques Héritaires*.
- François, L., Grenèche, M. O., Giraud, M., & Ogier, de B. (2000). Phenylketonuria: role of the dietic prescription. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, *35*(4), 275–284.
- Georgiou, T., Ho, G., Vogazianos, M., Dionysiou, M., Nicolaou, A., Chappa, G., Drousiotou, A. (2012). The spectrum of mutations identified in Cypriot patients with phenylalanine hydroxylase deficiency detected through neonatal screening. *Clinical Biochemistry*, *45*(7–8), 588–592.
- Giannattasio, S., Jurgelevičius, V., Lattanzio, P., Cimbalistien, L., Marra, E., & Kuinškas, V. (1997). Phenylketonuria mutations and linked haplotypes in the Lithuanian population: origin of the most common R408W mutation. *Human Heredity*, *47*(3), 155–160.
- Gitschier, J., Wood, W. I., Shuman, M. A., & Lawn, R. M. (1986). Identification of a missense mutation in the factor VIII gene of a mild hemophiliac. *Science*, *232*(4756), 1415–1416.
- Gjetting, T., Petersen, M., Guldberg, P., & Güttler, F. (2001). In vitro expression of 34 naturally occurring mutant variants of phenylalanine hydroxylase: correlation with metabolic phenotypes and susceptibility toward protein aggregation. *Molecular Genetics and Metabolism*, *72*(2), 132–143.
- Glanowski, C., Chapelon-Abric, C., Mestiri, R., Bialé, L., Leroux, G., Saadoun, D., Cacoub, P. (2015). Sarcoïdose osseuse: étude rétrospective de 27 cas. *La Revue de Médecine Interne*, *36*, A175–A176.
- Glaser, B., Kesavan, P., Heyman, M., Davis, E., Cuesta, A., Buchs, A., Matschinsky, F. M. (1998). Familial hyperinsulinism caused by an activating glucokinase mutation. *New England Journal of Medicine*, *338*(4), 226–230.
- Goldberg, Y., Porat, R. M., Kedar, I., Shochat, C., Sagi, M., Eilat, A., Hubert, A. (2008). Mutation spectrum in HNPCC in the Israeli population. *Familial Cancer*, *7*(4), 309–317.
- Goltsov, A. A., Eisensmith, R. C., Konecki, D. S., Lichter-Konecki, U., & Woo, S. L. (1992). Associations between mutations and a VNTR in the human phenylalanine hydroxylase

- gene. *American Journal of Human Genetics*, 51(3), 627.
- Goltsov, A. A., Eisensmith, R. C., Naughton, E. R., Jin, L., Charkraborty, R., & Woo, S. L. C. (1993). A single polymorphic STR system in the human phenylalanine hydroxylase gene permits rapid prenatal diagnosis and carrier screening for phenylketonuria. *Human Molecular Genetics*, 2(5), 577–581.
- Goltsov, A. A., Eisensmith, R. C., & Woo, S. L. C. (1992). Detection of the XmnI RFLP at the human PAH locus by PCR. *Nucleic Acids Research*, 20(4), 927.
- Golzio, C., Martinovic-Bouriel, J., Thomas, S., Mougou-Zrelli, S., Grattagliano-Bessieres, B., Bonniere, M., ... Lyonnet, S. (2007). Matthew-Wood syndrome is caused by truncating mutations in the retinol-binding protein receptor gene STRA6. *The American Journal of Human Genetics*, 80(6), 1179–1187.
- Grünert, S. C., Brichta, C. M., Krebs, A., Clement, H.-W., Rauh, R., Fleischhaker, C., Schwab, K. O. (2013). Diurnal variation of phenylalanine and tyrosine concentrations in adult patients with phenylketonuria: subcutaneous microdialysis is no adequate tool for the determination of amino acid concentrations. *Nutrition Journal*, 12(1), 60.
- Heintz, C., Dobrowolski, S. F., Andersen, H. S., Demirkol, M., Blau, N., & Andresen, B. S. (2012). Splicing of phenylalanine hydroxylase (PAH) exon 11 is vulnerable: molecular pathology of mutations in PAH exon 11. *Molecular Genetics and Metabolism*, 106(4), 403–411.
- Hichri, H., Rendu, J., Monnier, N., Coutton, C., Dorseuil, O., Poussou, R. V., Ranchin, B. (2011). From Lowe syndrome to Dent disease: correlations between mutations of the OCRL1 gene and clinical and biochemical phenotypes. *Human Mutation*, 32(4), 379–388.
- Jeannesson-Thivisol, E., Feillet, F., Chéry, C., Perrin, P., Battaglia-Hsu, S.-F., Herbeth, B., Mention, K. (2015). Genotype-phenotype associations in French patients with phenylketonuria and importance of genotype for full assessment of tetrahydrobiopterin responsiveness. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 10(1), 158.
- Jennings, I. G., Cotton, R. G. H., & Kobe, B. (2000). Structural interpretation of mutations in phenylalanine hydroxylase protein aids in identifying genotype-phenotype correlations in phenylketonuria. *European Journal of Human Genetics*, 8(9), 683.
- Johnston, J. J., Lichter-Konecki, U., Wilson, E., Cobb, B. R., Evans, B. M., Schnur, R. E., & Wong, L.-J. (2004). Discordant PKU phenotype in one family due to disparate genotypes and a novel mutation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 27(2), 157–163.
- Kamkar, M., Saadat, M., Saadat, I., & Haghighi, G. (2003). Report of VNTR with 13 repeats

- linked to phenylalanine hydroxylase locus in unaffected members of two PKU families. *Iranian Biomedical Journal*, 7(2), 89–90.
- Kayaalp, E., Treacy, E., Waters, P. J., Byck, S., Nowacki, P., & Scriver, C. R. (1997). Human Phenylalanine Hydroxylase Mutations and Hyperphenylalaninemia Phenotypes: A Metanalysis of Genotype-Phenotype Correlations, 1309–1317.
- Kazazian, H. H., Antonarakis, S. E., Youssoufian, H., Dowling, C. E., Phillips, D. G., Wong, C., & Boehm, C. D. (1986). Comparison of Deficiency Alleles of the β -Globin and Factor VIII: C Genes: New Lessons from a Giant Gene. In *Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology* (Vol. 51, pp. 371–379). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Khemir, S., Halayem, S., Azzouz, H., Siala, H., Ferchichi, M., Guedria, A., Kaabachi, N. (2016). Autism in Phenylketonuria Patients: From Clinical Presentation to Molecular Defects. *Journal of Child Neurology*, 31(7), 843–849.
- Kidd, J. R., Pakstis, A. J., Zhao, H., Lu, R.-B., Okonofua, F. E., Odunsi, A., Schulz, L. O. (2000). Haplotypes and linkage disequilibrium at the phenylalanine hydroxylase locus, PAH, in a global representation of populations. *The American Journal of Human Genetics*, 66(6), 1882–1899.
- Knappskog, P. M., Eiken, H. G., Martínez, A., Bruland, O., Apold, J., & Flatmark, T. (1996). PKU mutation (D143G) associated with an apparent high residual enzyme activity: expression of a kinetic variant form of phenylalanine hydroxylase in three different systems. *Human Mutation*, 8(3), 236–246.
- Kobe, B., Jennings, I. G., & House, C. M. (1999). Structural basis of autoregulation of phenylalanine hydroxylase.
- Koch, R., Burton, B., Hoganson, G., Peterson, R., Rhead, W., Rouse, B., Guttler, F. (2002). Phenylketonuria in adulthood: a collaborative study. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 25(5), 333–346.
- Konecki, D. S., Wang, Y., Trefz, F. K., Lichter-Konecki, U., & Woo, S. L. C. (1992). Structural characterization of the 5' regions of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Biochemistry*, 31(35), 8363–8368.
- Krause, W., Halminski, M., McDonald, L., Dembure, P., Salvo, R., Freides, D., & Elsas, L. (1985). Biochemical and neuropsychological effects of elevated plasma phenylalanine in patients with treated phenylketonuria. A model for the study of phenylalanine and brain function in man. *The Journal of Clinical Investigation*, 75(1), 40–48.
- Kwok, S. C. M., Ledley, F. D., DiLella, A. G., Robson, K. J. H., & Woo, S. L. C. (1985). Nucleotide sequence of a full-length complementary DNA clone and amino acid

- sequence of human phenylalanine hydroxylase. *Biochemistry*, 24(3), 556–561.
- Kwon, B. S., Haq, A. K., Pomerantz, S. H., & Halaban, R. (1987). Isolation and sequence of a cDNA clone for human tyrosinase that maps at the mouse c-albino locus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(21), 7473–7477.
- Latorra, D., Stern, C. M., & Schanfield, M. S. (1994). Characterization of human AFLP systems apolipoprotein B, phenylalanine hydroxylase, and D1S80. *Genome Research*, 3(6), 351–358.
- Ledley, F. D., Grenett, H. E., DiLella, A. G., Kwok, S. C., & Woo, S. I. (1985). Gene transfer and expression of human phenylalanine hydroxylase. *Science*, 228(4695), 77–79.
- Ledley, F. D., Grenett, H. E., & Woos, S. L. C. (1987). Biochemical Characterization of Recombinant Human Phenylalanine Hydroxylase Produced in *Escherichia coli*, 262(5), 2228–2233.
- Li, N., Jia, H., Liu, Z., Tao, J., Chen, S., Li, X., Zhu, J. (2015). Molecular characterisation of phenylketonuria in a Chinese mainland population using next-generation sequencing. *Scientific Reports*, 5(February), 1–12.
- Lichter-Konecki, U., Schlotter, M., & Konecki, D. S. (1994). DNA sequence polymorphisms in exonic and intronic regions of the human phenylalanine hydroxylase gene aid in the identification of alleles. *Human Genetics*, 94(3), 307–310.
- Lidsky, A. S., Law, M. L., Morse, H. G., Kao, F.-T., Rabin, M., Ruddle, F. H., & Woo, S. I. (1985). Regional mapping of the phenylalanine hydroxylase gene and the phenylketonuria locus in the human genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(18), 6221–6225.
- Lyonnet, S., Caillaud, C., Rey, F., Berthelon, M., Frézal, J., Rey, J., & Munnich, A. (1989). Molecular genetics of phenylketonuria in Mediterranean countries: a mutation associated with partial phenylalanine hydroxylase deficiency. *American Journal of Human Genetics*, 44(4), 511.
- Lyonnet, S., Rey, F., Caillaud, C., Abadie, V., Munnich, A., & Rey, J. (1988). Bases moléculaires de la phénylcétonurie en France: de l'invasion celte à la bataille de Poitiers.
- Manti, F., Nardecchia, F., Chiarotti, F., Carducci, C., Carducci, C., & Leuzzi, V. (2016). Psychiatric disorders in adolescent and young adult patients with phenylketonuria. *Molecular Genetics and Metabolism*, 117(1), 12–18.
- Martinelli, D., Travaglini, L., Drouin, C. A., Ceballos-Picot, I., Rizza, T., Bertini, E., El Hachem, M. (2013). MEDNIK syndrome: a novel defect of copper metabolism treatable by zinc acetate therapy. *Brain*, 136(3), 872–881.

- Marvit, J., DiLella, A. G., Brayton, K., Ledley, F. D., Robson, K. J. H., & Woo, S. L. C. (1987). GT to AT transition at a splice donor site causes skipping of the preceding exon in phenylketonuria. *Nucleic Acids Research*, *15*(14), 5613–5628.
- Miranda, F. F., Teigen, K., Thóroólfsson, M., Svebak, R. M., Knappskog, P. M., Flatmark, T., & Martinez, A. (2002). Phosphorylation and Mutations of Ser16 in Human Phenylalanine Hydroxylase KINETIC AND STRUCTURAL EFFECTS. *Journal of Biological Chemistry*, *277*(43), 40937–40943.
- Mirisola, M. G., Cali, F., Gloria, A., Schinocca, P., D'Amato, M., Cassara, G., Romano, V. (2001). PAH gene mutations in the Sicilian population: association with minihaplotypes and expression analysis. *Molecular Genetics and Metabolism*, *74*(3), 353–361.
- Mount, S. M. (1982). A catalogue of splice junction sequences. *Nucleic Acids Research*, *10*(2), 459–472.
- Moyrand, L. (2015). Dépistage et suivi au long terme, d'une cohorte de phénylcétonurie et hyperphénylalaninémie modérée permanente en Normandie.
- Munnich, A., Daegelen, D., Besmond, C., Marie, J., Dreyfus, J.-C., & Kahn, A. (1982). Cell-free translation of messenger RNAs from human muscle biopsies: a miniaturized tool for investigation of neuromuscular diseases. *Pediatric Research*, *16*(5), 335.
- Murphy, B. C., Scriver, C. R., & Singh, S. M. (2006). CpG methylation accounts for a recurrent mutation (c. 1222C> T) in the human PAH gene. *Human Mutation*, *27*(9), 975.
- Okombi, S. (2013). Recherche et étude de molécules à activité antityrosinase et leur utilisation comme agents dépigmentants en dermocosmétique To cite this version : HAL Id : tel-00846562 Discipline : Chimie.
- Panel, N. I. of H. C. D. (2001). National institutes of health consensus development conference statement: phenylketonuria: screening and management, October 16–18, 2000. *Pediatrics*, *108*(4), 972–982.
- Pangalos, C., Hagnefelt, B., Lilakos, K., & Konialis, C. (2016). First applications of a targeted exome sequencing approach in fetuses with ultrasound abnormalities reveals an important fraction of cases with associated gene defects. *PeerJ*, *4*, e1955.
- Perrin, E. (1996). Développement par voie enzymatique et caractérisation d'une fraction protéique appauvrie en phénylalanine utilisable pour le traitement des phénylcétonuries. Nancy 1.
- Petersen, K. F., Dufour, S., Hariri, A., Nelson-Williams, C., Foo, J. N., Zhang, X.-M., Shulman, G. I. (2010). Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease. *New England Journal of Medicine*, *362*(12), 1082–1089.

- Polak, E., Ficek, A., Radvanszky, J., Soltysova, A., Urge, O., Cmelova, E., Kadasi, L. (2013). Phenylalanine hydroxylase deficiency in the Slovak population: genotype–phenotype correlations and genotype-based predictions of BH4-responsiveness. *Gene*, 526(2), 347–355.
- Polák, E., Üрге, O., & Kádaši, . (2015). Molekulárna genetika, fenotypová variabilita a sú asné trendy v personalizovanej medicíne fenylketonúrie. *Czecho-Slovak Pediatrics/Cesko-Slovenska Pediatrie*, 70(6).
- Pro ina, N., & Lugovska, R. (2011). Association between minihaplotypes and mutations at the phenylalanine hydroxylase locus in Latvian phenylketonuria patients. In *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. (Vol. 65, pp. 73–79). Versita.
- Regier, D. S., & Greene, C. L. (2017). Phenylalanine hydroxylase deficiency.
- Robson, K. J., Chandra, T., MacGillivray, R. T., & Woo, S. L. (1982). Polysome immunoprecipitation of phenylalanine hydroxylase mRNA from rat liver and cloning of its cDNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(15), 4701–4705.
- Sadek, A. A., Emam, A. M., & Alhaggagy, M. Y. (2013). Clinicolaboratory profile of phenylketonuria (PKU) in Sohag University Hospital-Upper Egypt. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 14(3), 293–298.
- Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A., & Arnheim, N. (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, 230(4732), 1350–1354.
- Sarkissian, C. N., Gamez, A., Scott, P., Dauvillier, J., Dorenbaum, A., Scriver, C. R., & Stevens, R. C. (2011). Chaperone-like therapy with tetrahydrobiopterin in clinical trials for phenylketonuria: is genotype a predictor of response? In *JIMD Reports-Case and Research Reports*, 2012/2 (pp. 59–70). Springer.
- Sarkissian, C. N., Gámez, A., Wang, L., Charbonneau, M., Fitzpatrick, P., Lemontt, J. F., Henschell, C. (2008). Preclinical evaluation of multiple species of PEGylated recombinant phenylalanine ammonia lyase for the treatment of phenylketonuria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(52), 20894–20899.
- Saudubray, P. J. (2006). La phénylcétonurie, 1–11.
- Scriver, C. R., Hurtubise, M., Konecki, D., Phommarinh, M., Prevost, L., Erlandsen, H., McDonald, D. (2003). PAHdb 2003: What a locus-specific knowledgebase can do. *Human Mutation*, 21(4), 333–344.
- Song, F., Qu, Y. J., Zhang, T., Jin, Y. W., Wang, H., & Zheng, X. Y. (2005). Phenylketonuria

- mutations in Northern China. *Molecular Genetics and Metabolism*, 86.
- Srilekha, S., Arokiasamy, T., Srikrupa, N. N., Umashankar, V., Meenakshi, S., Sen, P., Soumitra, N. (2015). Homozygosity mapping in Leber congenital amaurosis and autosomal recessive retinitis pigmentosa in South Indian families. *PloS One*, 10(7), e0131679.
- Stelzer, G., Dalah, I., Stein, T. I., Satanower, Y., Rosen, N., Nativ, N., Bahir, I. (2011). In-silico human genomics with GeneCards. *Human Genomics*, 5(6), 709.
- Stojiljkovic, M., Jovanovic, J., Djordjevic, M., Grkovic, S., Cvorkov Drazic, M., Petrucev, B., Pavlovic, S. (2006). Molecular and phenotypic characteristics of patients with phenylketonuria in Serbia and Montenegro. *Clinical Genetics*, 70(2), 151–155.
- Trefz, F. K., Scheible, D., Götz, H., & Frauendienst-Egger, G. (2009). Significance of genotype in tetrahydrobiopterin-responsive phenylketonuria. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 32(1), 22–26.
- Trocello, J.-M., Corbillon, E., Bourdain, F., Xie, J., Sobesky, R., & Woimant, F. (2010). Maladie de Wilson. Protocole national de diagnostic et de soins. Les points importants pour le neurologue. *Pratique Neurologique-FMC*, 1(3), 208–216.
- Trunzo, R., Santacroce, R., D'Andrea, G., Longo, V., De Girolamo, G., Dimatteo, C., Margaglione, M. (2013). Mutation analysis in hyperphenylalaninemia patients from South Italy. *Clinical Biochemistry*, 46(18), 1896–1898.
- Trunzo, R., Santacroce, R., D'Andrea, G., Longo, V., De Girolamo, G., Dimatteo, C., Papadia, F. (2015). Phenylalanine hydroxylase deficiency in south Italy: Genotype–phenotype correlations, identification of a novel mutant PAH allele and prediction of BH4 responsiveness. *Clinica Chimica Acta*, 450, 51–55.
- Van der Zee, J., Le Ber, I., Maurer-Stroh, S., Engelborghs, S., Gijselinck, I., Camuzat, A., Hannequin, D. (2007). Mutations other than null mutations producing a pathogenic loss of progranulin in frontotemporal dementia. *Human Mutation*, 28(4), 416.
- Verlinsky, Y., Rechitsky, S., Verlinsky, O., Strom, C., & Kuliev, A. (2001). Preimplantation testing for phenylketonuria. *Fertility and Sterility*, 76(2), 346–349.
- Vona, B., Hofrichter, M. A. H., Chioza, B. A., Crosby, A. H., Nanda, I., & Haaf, T. (2016). Genetic Elucidation of Nonsyndromic Hearing Loss in the High-Throughput Sequencing Era. In *Genetics of Deafness* (Vol. 20, pp. 56–72). Karger Publishers.
- Wang, Z.-W., Jiang, S.-W., & Zhou, B.-C. (2018). PAH mutation spectrum and correlation with PKU manifestation in north Jiangsu province population. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 34(2), 89–94.

- Woo, S. L. C., Lidsky, A. S., Güttler, F., Chandra, T., & Robson, K. J. H. (1983). Cloned human phenylalanine hydroxylase gene allows prenatal diagnosis and carrier detection of classical phenylketonuria. *Nature*, 306(5939), 151.
- Wright, F. (2003). Métabolismes des molécules- signaux.
- Yao, Y.-L., & Yang, W.-M. (2010). Beyond histone and deacetylase: an overview of cytoplasmic histone deacetylases and their nonhistone substrates. *BioMed Research International*, 2011.
- Yu, W., He, J., Yang, X., Zou, H., Gui, J., Wang, R., Lei, Q. (2014). Characterization of phenylalanine hydroxylase gene mutations in phenylketonuria in Xinjiang of China. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7(11), 4406–4412.
- ekanowski, C., Jurkowska, M., & Bal, J. (2001). Association between minihaplotypes and mutations at the PAH locus in Polish hyperphenylalaninemic patients. *Human Heredity*, 51(1–2), 117–120.
- ekanowski, C., Nowacka, M., Radomska, B., & Cabalska, B. (2001). Should newborn mutation scanning for hyperphenylalaninaemia and galactosaemia be implemented? A Polish experience. *Journal of Medical Screening*, 8(3), 132–136.
- Zschocke, J., Graham, C. A., Carson, D. J., & Nevin, N. C. (1995). Phenylketonuria mutation analysis in Northern Ireland: a rapid stepwise approach. *American Journal of Human Genetics*, 57(6), 1311.
- Zschocke, J., Preusse, A., Sarnavka, V., Fumic, K., Mardešić, D., Hoffmann, G. F., & Baric, I. (2003). The molecular basis of phenylalanine hydroxylase deficiency in Croatia. *Human Mutation*, 21(4), 399.

Sites internet

- <https://ghr.nlm.nih.gov/condition/phenylketonuria>
- <http://fr.db-city.com/Algerie--Sétif>
- <http://sasi101.blogspot.com/2014/12/la-phenylcetonurie-pku>

Summary

Phenylketonuria (PKU) is the most common inborn abnormality of metabolism, characterized by mild to severe mental deficiency in untreated patients.

In the absence of a neonatal diagnosis, the symptoms develop in a few months and can be very mild to severe. They include gradual development, growth retardation, microcephaly, convulsions, tremors, eczema, vomiting and musty odor. Untreated patients develop intellectual deficit, behavioral disorders (hyperactivity) and motor skills. Patients often have light skin and hair resulting from a tyrosine deficiency. The most common form is classical PKU is characterized by severe symptoms. A mild form (mild PKU), as well as an even lighter form called mild hyperphenylalaninemia (mild HPA or non-PKU HPA). Some patients with mild phenotypes were found to be responding to tetrahydrobiopterin (BH4), the co-factor for phenylalanine hydroxylation (BH4-responsive HPA).

PKU is usually diagnosed in neonatal screening programs and should be distinguished from BH4 deficiency by a differential diagnosis.

Its inheritance is autosomal recessive and its genetic counseling has to be offered to the affected families; it is caused by mutations of the PAH gene (12q22-q24.2) coding for the hydroxylase of phenylalanine. Mutations that do not affect the PAH gene have been identified and cause hyperphenylalaninemia due to BH4 deficiency. The low levels of phenylalanine hydroxylase support clinical manifestations, due to the accumulation of toxic phenylalanine in the blood and the brain.

Our study consists of an interpretation of the medical files of the patients collected from the pediatric department of the hospital of Sétif using the results of different biochemical techniques (HPLC, LC-MS / MS) and clinical (MRI, EEG), among the twenty-three cases founded; we chose two families with a typical PKU and a deficit of BH4 to make our study, a correlation genotype / phenotype has shown that the mutation 280 (glu →lys) is the most founded in the Algerian population and in North Africa.

Key words: phenylketonuria, phenylalanine, phenylalanine hydroxylase, cofactor.

فينيلكيتون يوريا هو مرض حديثي الفطري الأكثر شيوعاً في عملية الأيض ، والذي يتميز بنقص عقلي خفيف إلى حاد في المرضى غير المعالجين.

في غياب تشخيص حديثي الولادة ، تتطور الأعراض في بضعة أشهر ، ويمكن أن تكون خفيفة إلى شديدة. وهي النمو ، وصغر الرأس ، والتشنجات ، والأكزيما ، والتقيؤ ، والرائحة العفنة. المرضى غير المعالجين يطورون عجزاً فكرياً واضطرابات سلوكية () ومهارات حركية. ما يكون لدى ^{شعر} في التيروزين. الشكل الأكثر شيوعاً هو فينيلكيتون الكلاسيكي يتميز بأعراض حادة. شكل خفيف (فينيلكيتون) وكذلك شكل أخف من ذلك يسمى فرط فينيل ألانين الدم المعتدل HPA غير PCU. تم العثور على بعض المرضى الذين يعانون من الظواهر المعتدلة تستجيب ل - (BH4 responsive HPA):. فينيل ألانين هيدروكسيلاز. عادة ما يتم تشخيص فينيلكيتون برامج فحص الأطفال حديثي الولادة وينبغي تمييزها عن نقص BH4 عن طريق التشخيص التفريقي.

هو مرض وراثي ، ويجب تقديم المشورة الوراثية للأسر المتضررة ؛ وهو ناتج عن طفرات في جين لهيدروكسيل فينيل ألانين (12q22-q24.2). تم تحديد الطفرات التي لا تؤثر على جين هيدروكسيل فينيل ألانين فينيل ألانين الدم بسبب نقص BH4. وتدعم المستويات المنخفضة من فينيل ألانين هيدروكسيلاز المظاهر السريرية ، بسبب تراكم مادة الفينيل ألانين السامة في الدم والدماغ.

تتكون دراستنا من تفسير للملفات الطبية للمرضى التي تم جمعها من قسم الأطفال في مستشفى سطيف باستخدام نتائج التقنيات البيوكيميائية المختلفة (LC-MS / MS HPLC) والسريرية (التصوير بالرنين المغناطيسي IRM EEG) بين العشرين العشرين ؛ اخترنا عائلتين مع فينيلكيتون الكلاسيكي وعجز BH4 دراستنا ، وقد أظهر $280^{(glu \rightarrow lys)}$ هي الأكثر وج في الجزائر وفي شمال أفريقيا.

.BH4 الكلمات المفتاحية: الفينيلكيتون، فينيل ألانين، فينيل ألانين هيدروكسيلاز.

Année universitaire 2017/2018

Présenté par: **NOUAR Sakina**
Encadré par: **Dr. BOUAZZA Lyas**

Mémoire présenté en vue l'obtention du diplôme de Master
en Génétique

ETUDE BIOCHIMIQUE, GENETIQUE ET EPIDEMIOLOGIQUE DE LA PHENYLCETONURIE

Résumé

La phénylcétonurie (PCU) est la plus commune des anomalies innées du métabolisme, elle est caractérisée par un déficit mental léger à sévère chez les patients non traités.

En l'absence de diagnostic néonatal, les symptômes se développent en quelques mois et peuvent être de très légers à sévères. Ils incluent retard de développement graduel, retard de croissance, microcéphalie, convulsions, tremblements, eczéma, vomissements et odeur de moisi. Les patients non traités développent un déficit intellectuel, des troubles du comportement (hyperactivité) et de la motricité. Les patients ont souvent la peau et les cheveux clairs, résultat d'un déficit en tyrosine. La forme la plus fréquente est la PCU classique est caractérisée par des symptômes sévères. Une forme légère (PCU modérée), ainsi qu'une forme encore plus légère appelée hyperphénylalaninémie modérée (HPA modérée ou HPA non PCU). Certains patients aux phénotypes légers se sont avérés répondeurs à la tétrahydrobioptérine (BH4), le cofacteur de l'hydroxylation de la phénylalanine (HPA répondeur au BH4).

La PCU est généralement diagnostiquée lors de programmes de dépistage néonatal, doit être distinguée du déficit en BH4 par un diagnostic différentiel.

Sa transmission est autosomique récessive et un conseil génétique doit être proposé aux familles affectées, elle est causée par des mutations du gène *PAH* (12q22-q24.2) codant pour l'hydroxylase de la phénylalanine. Des mutations ne touchant pas le gène *PAH* ont été identifiées et causent une hyperphénylalaninémie due au déficit en BH4. l'accumulation de la phe toxique dans le sang et le cerveau sont tendent les manifestations cliniques.

Notre étude consiste à faire une étude des dossiers médicaux des malades collectés à partir des archives du service de pédiatrie de l'hôpital de Sétif utilisant les résultats de différentes techniques biochimiques (HPLC, LC-MS/MS) et cliniques (IRM, EEG), parmi les vingt-trois cas trouvés nous avons choisis deux familles ayant une PCU typique et un déficit en BH4 pour présenter notre étude. Une corrélation génotype /phénotype a montré que la mutation 280 (glu → lys) est la plus trouvée dans la population Algérienne et en Afrique du Nord. **Mots clés: phénylcétonurie, phénylalanine, phénylalanine hydroxylase, cofacteur**

Devant le jury :

Président :	Dr. Boufennara.S	M.C.A	Univ. Abbés Laghrour Khenchela
Examineur :	Dr. Bensaada. M	M.C.B	Univ. Abbés Laghrour Khenchela
Promteur :	Dr. BOUAZZA.L	M.C.B	Univ. Abbés Laghrour Khenchela

Date de soutenance : 19 Juin 2018

