

UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2012

THESE N°: 60

**ETUDE MOLÉCULAIRE DE LA PHÉNYLCÉTONURIE : RECHERCHE
DE LA MUTATION P.G352FSDELG PAR RFLP.**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

M. BWANGA KUMABWENA MAX
Né le 05 Mai 1986 (R.D.Congo)

Pour l' Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Phénylcétonurie, p.G352fsdelG, RFLP

JURY

M. Omar CHOKAÏRI
Professeur d'Histologie Embryologie

PRESIDENT

M. Layachi CHABRAOUI
Professeur de Biochimie

RAPPORTEUR

Mme Ez-Zohra OUZZIF
Professeur de Biochimie

Mme Sanae BOUHSAIN
Professeur Agrégé de Biochimie

M. Aomar AGADR
Professeur Agrégé de Pédiatrie

JUGES



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT

DOYENS HONORAIRES :

- 1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

- Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali*
12. Pr. BENOMAR M'hammed
13. Pr. BENSOUA Mohamed
14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
17. Pr. BALAFREJ Amina
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-ptisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed*
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
25. Pr. NAJI M'Barek *
26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUN Halima
28. Pr. BENSALIM Younes
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
30. Pr. IHRAI Hssain *
31. Pr. IRAQI Ghali
32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
athologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-ptisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali
34. Pr. AMMAR Fanid
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE
36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
37. Pr. EL HAITEM Naïma
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
41. Pr. LACHKAR Hassan
42. Pr. OHAYON Victor*
43. Pr. YAHYAOUY Mohamed

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-ptisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib | Chirurgie Pédiatrique |
| 45. Pr. DAFIRI Rachida | Radiologie |
| 46. Pr. FAIK Mohamed | Urologie |
| 47. Pr. HERMAS Mohamed | Traumatologie Orthopédie |
| 48. Pr. TOLOUNE Farida* | Médecine Interne |

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

- | | |
|-------------------------------------|--------------------------|
| 49. Pr. ADNAOUI Mohamed | Médecine Interne |
| 50. Pr. AOUNI Mohamed | Médecine Interne |
| 51. Pr. BENAMEUR Mohamed* | Radiologie |
| 52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali | Cardiologie |
| 53. Pr. CHAD Bouziane | Pathologie Chirurgicale |
| 54. Pr. CHKOFF Rachid | Urologie |
| 55. Pr. KHARBACH Aïcha | Gynécologie -Obstétrique |
| 56. Pr. MANSOURI Fatima | Anatomie-Pathologique |
| 57. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda | Neurologie |
| 58. Pr. SEDRATI Omar* | Dermatologie |
| 59. Pr. TAZI Saoud Anas | Anesthésie Réanimation |

Février Avril Juillet et Décembre 1991

- | | |
|--|--|
| 60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia | Anatomie-Pathologique |
| 61. Pr. ATMANI Mohamed* | Anesthésie Réanimation |
| 62. Pr. AZZOUZI Abderrahim | Anesthésie Réanimation |
| 63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM | Néphrologie |
| 64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader | Chirurgie Générale |
| 65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad | Hématologie |
| 66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif | Chirurgie Générale |
| 67. Pr. BENSOUDA Yahia | Pharmacie galénique |
| 68. Pr. BERRAHO Amina | Ophtalmologie |
| 69. Pr. BEZZAD Rachid | Gynécologie Obstétrique |
| 70. Pr. CHABRAOUI Layachi | Biochimie et Chimie |
| 71. Pr. CHANA El Houssaine* | Ophtalmologie |
| 72. Pr. CHERRAH Yahia | Pharmacologie |
| 73. Pr. CHOKAIRI Omar | Histologie Embryologie |
| 74. Pr. FAJRI Ahmed* | Psychiatrie |
| 75. Pr. JANATI Idrissi Mohamed* | Chirurgie Générale |
| 76. Pr. KHATTAB Mohamed | Pédiatrie |
| 77. Pr. NEJMI Maati | Anesthésie-Réanimation |
| 78. Pr. OUAALINE Mohammed* | Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène |
| 79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH | Pharmacologie |
| 80. Pr. TAOUFIK Jamal | Chimie thérapeutique |

Décembre 1992

81. Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
82. Pr. BENOUDA Amina	Microbiologie
83. Pr. BENSOUA Adil	Anesthésie Réanimation
84. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie
85. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
86. Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie Obstétrique
87. Pr. DAOUDI Rajae	Ophthalmologie
88. Pr. DEHAYNI Mohamed*	Gynécologie Obstétrique
89. Pr. EL HADDOURY Mohamed	Anesthésie Réanimation
90. Pr. EL OUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
91. Pr. FELLAT Rokaya	Cardiologie
92. Pr. GHAFIR Driss*	Médecine Interne
93. Pr. JIDDANE Mohamed	Anatomie
94. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine	Gynécologie Obstétrique
95. Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
96. Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

Mars 1994

97. Pr. AGNAOU Lahcen	Ophthalmologie
98. Pr. AL BAROUDI Saad	Chirurgie Générale
99. Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophthalmologie
100. Pr. BENJAAFAR Nouredine	Radiothérapie
101. Pr. BENJELLOUN Samir	Chirurgie Générale
102. Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
103. Pr. CAOUI Malika	Biophysique
104. Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
105. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT	Gynécologie Obstétrique
106. Pr. EL AOUAD Rajae	Immunologie
107. Pr. EL BARDOUNI Ahmed	Traumatologie-Orthopédie
108. Pr. EL HASSANI My Rachid	Radiologie
109. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur	Médecine Interne
110. Pr. EL KIRAT Abdelmjid*	Chirurgie Cardio- Vasculaire
111. Pr. ERROUGANI Abdelkader	Chirurgie Générale
112. Pr. ESSAKALI Malika	Immunologie
113. Pr. ETTAYEBI Fouad	Chirurgie Pédiatrique
114. Pr. HADRI Larbi*	Médecine Interne
115. Pr. HASSAM Badredine	Dermatologie
116. Pr. IFRINE Lahssan	Chirurgie Générale
117. Pr. JELTHI Ahmed	Anatomie Pathologique
118. Pr. MAHFOUD Mustapha	Traumatologie – Orthopédie
119. Pr. MOUDENE Ahmed*	Traumatologie- Orthopédie
120. Pr. OULBACHA Said	Chirurgie Générale
121. Pr. RHRAB Brahim	Gynécologie –Obstétrique
122. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR	Dermatologie
123. Pr. SLAOUI Anas	Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

124. Pr. ABBAR Mohamed*	Urologie
125. Pr. ABDELHAK M'barek	Chirurgie – Pédiatrique
126. Pr. BELAIDI Halima	Neurologie
127. Pr. BRAHMI Rida Slimane	Gynécologie Obstétrique
128. Pr. BENTAHILA Abdelali	Pédiatrie

129. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali	Gynécologie – Obstétrique
130. Pr. BERRADA Mohamed Saleh	Traumatologie – Orthopédie
131. Pr. CHAMI Ilham	Radiologie
132. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae	Ophtalmologie
133. Pr. EL ABBADI Najia	Neurochirurgie
134. Pr. HANINE Ahmed*	Radiologie
135. Pr. JALIL Abdelouahed	Chirurgie Générale
136. Pr. LAKHDAR Amina	Gynécologie Obstétrique
137. Pr. MOUANE Nezha	Pédiatrie

Mars 1995

138. Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
139. Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
140. Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
141. Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique
142. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*	Urologie
143. Pr. BENAZZOZ Mustapha	Gastro-Entérologie
144. Pr. CHAARI Jilali*	Médecine Interne
145. Pr. DIMOU M'barek*	Anesthésie Réanimation
146. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*	Anesthésie Réanimation
147. Pr. EL MESNAOUI Abbes	Chirurgie Générale
148. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila	Oto-Rhino-Laryngologie
149. Pr. FERHATI Driss	Gynécologie Obstétrique
150. Pr. HASSOUNI Fadil	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
151. Pr. HDA Abdelhamid*	Cardiologie
152. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed	Urologie
153. Pr. IBRAHIMY Wafaa	Ophtalmologie
154. Pr. MANSOURI Aziz	Radiothérapie
155. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia	Ophtalmologie
156. Pr. RZIN Abdelkader*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
157. Pr. SEFIANI Abdelaziz	Génétique
158. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali	Réanimation Médicale

Décembre 1996

159. Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
160. Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
161. Pr. BELMAHI Amin	Chirurgie réparatrice et plastique
162. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
163. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
164. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
165. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
166. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
167. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
168. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
169. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
170. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
171. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
172. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

Novembre 1997

173. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
174. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
175. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
176. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
177. Pr. BOULAICH Mohamed	O.RL.
178. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
179. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
180. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
181. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
182. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
183. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
184. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
185. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
186. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
187. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
188. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
189. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
190. Pr. SAFI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
191. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
192. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

193. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
194. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-ptisiologie
195. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
196. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
197. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
198. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
199. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
200. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
201. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

202. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
203. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
204. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

205. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
206. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
207. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie

208. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
209. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-ptisiologie
210. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
211. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
212. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
213. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-ptisiologie
214. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
215. Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
216. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
217. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
218. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
219. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
220. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
221. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
222. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
223. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

224. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
225. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
226. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
227. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
228. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie
229. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
230. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
231. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
232. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
233. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
234. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
235. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
236. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
237. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
238. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
239. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
240. Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
241. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
242. Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
243. Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

244. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
245. Pr. AOUAD Aicha	Cardiologie
246. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation

247. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophtalmologie
248. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
249. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
250. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
251. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
252. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
253. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
254. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
255. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
256. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
257. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
258. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
259. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
260. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
261. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
262. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
263. Pr. DRISSE Sidi Mourad*	Radiologie
264. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
265. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
266. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
267. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
268. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
269. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
270. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
271. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
272. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
273. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
274. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
275. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
276. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
277. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
278. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
279. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
280. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
281. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
282. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
283. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
284. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
285. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
286. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
287. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
288. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
289. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie

Décembre 2002

290. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
291. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
292. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
293. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
294. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
295. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
296. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
297. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
298. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
299. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
300. Pr. BICHA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
301. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
302. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
303. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
304. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
305. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
306. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
307. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
308. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
309. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
310. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
311. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
312. Pr. IKEN Ali	Urologie
313. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
314. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
315. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
316. Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
317. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
318. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
319. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
320. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
321. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
322. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
323. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
324. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
325. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
326. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
327. Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
328. Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
329. Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale
330. Pr. ZRARA Ibtisam*	Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

331. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophtalmologie
332. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
333. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
334. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
335. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
336. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
337. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
338. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
339. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
340. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
341. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
342. Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
343. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
344. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
345. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
346. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
347. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
348. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
349. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
350. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
351. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
352. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
353. Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
354. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
355. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
356. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
357. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie
358.	

Janvier 2005

359. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
360. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
361. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
362. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
363. Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
364. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
365. Pr. AZIZ Noureddine*	Radiologie
366. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
367. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
368. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
369. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
370. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
371. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
372. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie

373. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
374. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
375. Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
376. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
377. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
378. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
379. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
380. Pr. KENDOUCI Mohamed*	Cardiologie
381. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
382. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
383. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
384. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
385. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
386. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
387. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra	Dermatologie
427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429. Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAOUI Younes	Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine	Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
444. Pr. KILI Amina	Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir	Chirurgie – Pédiatrique
447. Pr. KHARCHAFI Aziz*	Médecine Interne
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*	Pharmacie Galénique
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*	Parasitologie

450. Pr. MANSOURI Hamid*	Radiothérapie
451. Pr. NAZIH Naoual	O.R.L
452. Pr. OUANASS Abderrazzak	Psychiatrie
453. Pr. SAFI Soumaya*	Endocrinologie
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra	Psychiatrie
455. Pr. SEFIANI Sana	Anatomie Pathologique
456. Pr. SOUALHI Mouna	Pneumo – Phtisiologie
457. Pr. TELLAL Saida*	Biochimie
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida	Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila	Anatomie pathologique
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid	Anesthésier réanimation
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *	Anesthésie réanimation
462. Pr. BAITE Abdelouahed *	Anesthésie réanimation
463. Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie
464. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhousain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie

491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie

Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérologique
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
Pr. RAISSOUNI Zakaria*	Traumatologie orthopédie
Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie
Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

* *Enseignants Militaires*

*A Dieu soit toute la Gloire et tout l'Honneur
Pour Sa grâce et Sa fidélité envers Moi
Grâce manifestée durant toutes les années que
j'ai passées au Maroc.*

*Malgré la distance qui me sépare avec ma
famille, Sa bienveillance envers moi n'a pas été
vaine, Il m'a permis de rencontrer une
nouvelle famille.*

*L'accomplissement de mes études de Pharmacie
n'est que l'œuvre de Sa Grâce, et mes faibles
mots ne suffiront jamais pour exprimer toute
ma reconnaissance.*

DEDICACES

A Mes Parents

Alexis KUMABWENA et Astride KWETO

*Pour toutes les valeurs, les vertus et l'éducation véritable trésor que
j'ai reçue de leur part,*

*Pour leur encouragement, leur soutien ainsi que leur confiance durant
toutes mes années étudiantes.*

Et surtout pour leur Amour et leur Patience à mon égard

*Les mots ne pourront décrire la profondeur des sentiments de mon
cœur*

A Mes frères et sœurs

*Diane Inangu, Achille Malabala, Guy Ngweyi, Hortense Mwemboyo,
Christian Luonga, Edoxie Biongo.*

Pour vos prières et vos encouragements à mon égard

A Mon frère Espérant Disasi

Pour tes prières et tes encouragements à mon égard

A ma tante Henriette Diengo KWETO

*A mon Pasteur Philippe SHEMBO DIATA, pour avoir toujours été un
modèle pour moi.*

*A tous les amis qui m'ont accompagné durant mes études, Laetitia
Bodo, Vitalis Kiptoo, Boureïma Konaté et Mohammed Atti.*

REMERCIEMENTS

A Mon Maître et Président du jury

Monsieur Omar CHOKAÏRI

Professeur d'Histologie Embryologie

En acceptant de présider mon Jury de Thèse, vous me donnez une ultime chance et un grand honneur de bénéficier de vos expériences professionnelles. C'est une aubaine qui m'est offerte de vous témoigner mes reconnaissances les plus distinguées pour l'enseignement universitaire que j'ai reçu de votre part.

Merci, Cher Maître.

A Mon Maître et Rapporteur de Thèse

*Monsieur **Layachi CHABRAOUI***

Professeur de Biochimie

Je ne saurai vous remercier à la hauteur de vos actions très humaines, magnifiquement hors du commun à mon endroit. Ce fut une grâce, aujourd'hui un grand honneur de vous avoir eu doublement comme Professeur et Directeur de Thèse. J'apprends de vous et retiens pour toujours votre humanisme qui couronne en tout vos qualités professionnelles qui m'ont sans doute séduit. En voici le fruit : cette thèse qui à l'évidence me dépasse. En suivant vos directives si pédagogiques, je suis arrivé à la cerner et à la traiter. J'en suis heureux.

Merci Cher Maître.

A Mon Maître et Juge de Thèse

Madame Ez-Zohra OUZZIF

Professeur de Biochimie

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de prendre place au sein de ce jury de Thèse,

Pour le savoir que vous m'avez transmis au cours de mes études,

Pour avoir pris le temps de commenter et de corriger mon travail,

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance chère Maître.

A Mon Maître et juge de Thèse

Madame Sanae BOUHSAIN

Professeur agrégée de Biochimie

*Pour l'honneur que vous me faites en prenant part à ce jury de thèse,
Veuillez croire en ma plus haute considération.*

A Mon Maître et juge de Thèse

Monsieur Aomar AGADR

Professeur agrégée de Pédiatrie

*Pour l'honneur que vous me faites en prenant part à ce jury de thèse,
Veuillez croire en ma plus haute considération.*

Un tout grand merci au Docteur Talbaoui et au Docteur Saloua Dahri pour leur aide si précieuse et le partage de leur expérience durant toute ma période de thèse.

J'ai été amené à demander à maintes reprises de l'aide extérieure au Plateau technique de Recherche. J'ai eu la chance de rencontrer un personnel sympathique et disponible, prêts à donner de leur temps. Il est impossible de les citer tous, cependant je voudrais mentionner Abha, Bouchra, Hanane pour leur généreuse contribution.

A tous le personnel du laboratoire de Biochimie-Biologie moléculaire de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, pour leur disponibilité et leur généreuse contribution.

LISTE DES ABREVIATIONS

AA : acide aminé

AAN : acide aminé neutre

AFDPHE : Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant

AMM : Autorisation de mise sur le marché

BH2 : Dihydroptérine quinonoïde

BH4 : Tetrahydrobioptérine

BrdU : Bromodeoxyuridine

CNAMTS : Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés

DHPR: Dihydroptéridine reductase

DNS : Dépistage néonatal systématique

EEG: Electroencephalogramme

HAS: Haute autorité de santé

HMGR: 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A reductase

HMP: l'hyperphénylalaninémie modérée permanente

HNF1: Hépatocyte nuclear factor 1

HPA: Hyperphénylalaninémie

LAT1: Large amino acid transporter 1

LDH: Lactate deshydrogenase

LNAA: Large neutral amino acid

PAH: Phenylalanine hydroxylase

PCR: Polymerase chain reaction

PCU: Phénylcétonurie

Phe : Phénylalanine

QI : Quotient intellectuel

SNC : Système nerveux central

TGO:Transaminase glutamate oxaloacetate

TGP: Transaminase glutamate pyruvate

Tyr: Tyrosine

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Hydroxylation de la Phénylalanine et ses anomalies.....	9
Figure 2 : Métabolisme de la phénylalanine.....	11
Figure 3 : Cartes des mutations de la phénylalanine hydrolase.....	14
Figure 4 : Structure cristalline tridimensionnelle de la PAH humaine.....	16
Figure 5 : Combinaisons génétiques possibles.....	19
Figure 6 : Carte de Guthrie.....	30
Figure 7 : Structure moléculaire du KUVAN®.....	40
Figure 8 : Formulaire de consentement éclairé.....	50
Figure 9 : Principe schématique de la PCR.....	57
Figure 10 : Principe de la technique RFLP.....	58
Figure 11 : Sites de restriction de HphI sur l'exon 10 du gène PAH.....	59
Figure 12 : Photo d'une migration électrophorétique sur gèle d'agarose.....	63
Figure 13 : Répartition de la population estudiantine selon le sexe.....	64
Figure 14 : Répartition des étudiants selon l'origine géographique.....	65
Figure 15 : Profils électrophorétiques après digestion enzymatique par l'HphI.....	68
Figure 16 : Conduite à tenir en fonction du résultat du DNS.....	82

LES TABLEAUX

Tableau I : Prévalence de la PCU dans les principaux pays d'Europe.....	25
Tableau II : Les principales catégories d'aliments utilisées dans le régime..... des patients PCU	36
Tableau III : calcul de la dose du KUVAN® par rapport au poids.....	43
Tableau IV : Les effets indésirables du KUVAN®.....	45
Tableau V : Spectre des mutations du gène PAH identifiées au Maroc.....	75
Tableau VI : Relation phénotype et génotype observée dans la phénylcétonurie..... des patients marocains.	77

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PARTIE THEORIQUE :	4
MISE AU POINT SUR LA PCU	4
1.1 HISTORIQUE DE LA MALADIE.....	5
1.2. ASPECTS BIOLOGIQUES	7
1.3 ASPECTS CLINIQUES	20
1.4 EPIDEMIOLOGIE	24
1.5 LE DEPISTAGE NEONATAL	26
1.6. TRAITEMENT DE LA PHENYLACETONURIE.....	32
PARTIE PRATIQUE :	47
RECHERCHE DE LA MUTATION p.G352fsDELG PAR RFLP	47
2.1 PATIENTS ET METHODES.....	48
2.1.1 PATIENTS	48
2.1.2 METHODES	51
2.2 RESULTATS	64
2.2.1 CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE	64
2.2.2 RESULTATS DE L'ETUDE MOLECULAIRE DE LA PCU : RECHERCHE DE LA MUTATION <i>p.G352FSDELG</i> PAR RFLP	66
2.3 DISCUSSION	70
2.3.1 ASPECTS TECHNIQUES	70
2.3.2 CHOIX DE LA POPULATION D'ETUDE.....	71

2.3.3. APPORT DU TRAVAIL AU NIVEAU MAROCAIN	73
2.3.4. LIMITES DE LA TECHNIQUE	78
2.3.5 PRISE EN CHARGE APRES UN DEPISTAGE	79
2.3.6 PERSPECTIVES D'AVENIR DU TRAITEMENT DE LA PCU	88
CONCLUSION.....	91
RESUMES	95
REFERENCES	99

INTRODUCTION

La phénylcétonurie est une maladie héréditaire du métabolisme liée au défaut de transformation de Phénylalanine (Phe) en Tyrosine (Tyr). Elle représente 98% des cas d'hyperphénylalaninémies héréditaires. Le déficit enzymatique en cause concerne la phénylalanine hydroxylase (PAH) hépatique. Dans les autres cas d'hyperphénylalaninémies c'est le déficit en cofacteur de la phénylalanine hydroxylase appelé tétrahydrobioptérine (BH4 ou THB) qui est responsable de la maladie (Feuillet F., 2006).

L'accumulation sanguine de Phe qui résulte de ces déficits conduit à la production de métabolites secondaires notamment l'acide phénylpyruvique qui s'élimine dans les urines. Dans la PCU non traitée, l'hyperphénylalaninémie (HPA) est à l'origine 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 on note une odeur particulière de la peau et des urines dite « de souris ».

Ces troubles sont néanmoins évités grâce au dépistage néonatal systématique réalisé dans de nombreux pays au troisième jour de vie par le test de Guthrie, suivi d'une prise en charge adaptée. Cette prise en charge comprend un régime alimentaire strict et complexe dont le but est de contrôler le taux de phénylalanine dans le sang et d'instaurer dans certains cas un traitement médicamenteux.

Le succès d'une telle entreprise pose maintenant le problème de la PCU maternelle. En effet, les filles dépistées et traitées avec succès ont le risque de mettre au monde des enfants atteints d'une embryopathie en raison du caractère tératogène de l'HPA maternelle.

L'étude moléculaire du gène PAH peut être intéressante pour prédire la sensibilité au BH4 (Karacic I. et al. 2009) ou dans le cadre d'un conseil génétique ou d'un diagnostic prénatal.

PARTIE THEORIQUE :
MISE AU POINT SUR LA PCU

1.1 HISTORIQUE DE LA MALADIE

La découverte de cette maladie métabolique date de 1934 et est attribuée à un médecin, biochimiste et également physicien norvégien Asbjorn Fölling. Alors professeur de recherche nutritionnelle de l'institut physiologique d'Oslo, il est contacté par un couple, les Egeland, dont les deux enfants présentent tous deux un retard mental.

L'aînée, Liv, âgée de six ans est décrite comme très agitée et le cadet, Dag, quatre ans, ne tient pas sa tête droite, ne communique que par des sons inarticulés et des cris et ne peut manger que des aliments sous formes liquides.

Les parents décrivent une odeur particulière émanant des deux enfants, une odeur décrite comme gênante. L'examen clinique des deux enfants par Fölling n'apporta rien de nouveau sur leur état. En testant par simple routine leurs urines à l'aide de chlorure de fer en vue de révéler la présence ou non de corps cétoniques, une couleur verte sombre inhabituelle apparut quelques minutes puis les échantillons redevinrent normaux.

Perplexe, Fölling pria la mère à lui rapporter un nouvel échantillon une semaine plus tard. Il obtint la même couleur verte qu'une semaine auparavant. Déterminé à résoudre ce mystère, Fölling travailla pendant plus de deux mois pour isoler la substance responsable de cette étrange réaction chimique et il isola l'acide phénylpyruvique. Ses collègues de l'hôpital eurent une préférence pour le terme d'«acide idiot».

Très excité, il soumit un article sur ses recherches à un journal allemand où il employa le terme d'«*imbecillitas phenylpyrouvica* » pour décrire cette maladie.

Il théorisa le fait que la quantité accrue d'acide phénylpyruvique retrouvé dans les urines des patients, provenait inexorablement de l'incapacité de métaboliser l'acide aminé correspondant, c'est-à-dire la phénylalanine. (Christ S., 2003)

En 1940, Moss décrit pour la première fois, la conversion au niveau du foie de rat de la phénylalanine en tyrosine.

En 1953, Udenfried et Cooper découvrirent le système enzymatique transformant la phénylalanine en tyrosine et la même année Jervis démontra que le défaut de parahydroxylation de la phénylalanine est provoqué par l'inactivité de cette nouvelle enzyme.

En 1957, Seymour Kaufman met en évidence des enfants souffrant d'une forme de phénylcétonurie atypique ne touchant pas la phénylalanine hydroxylase mais un

co-facteur, la dihydrobioptérine réductase. C'est Horst Bickel, pédiatre allemand, qui en 1954 qui démontra qu'un régime pauvre en phénylalanine dès la naissance permettait de prévenir de l'apparition d'un retard mental. (Lemasson D., 1989)

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.

En 1962, Robert Guthrie, microbiologiste américain, mis au point une méthode plus facile de dépistage chez les nouveau-nés en utilisant le simple dépôt de gouttelettes de sang sur un support en papier.

Au niveau des avancés thérapeutiques, depuis 2002, il a été montré que certains patients déficients en phénylalanine hydroxylase, étaient sensibles à des doses pharmacologiques de tétrahydrobioptérine (BH4).

Depuis 2009, le médicament issu de ces recherches, le dichlorhydrate de saproptérine (Kuvan®) a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le cadre des hyperphénylalaninémies liées à des déficits de synthèse ou de régénération du BH4.

1.2. ASPECTS BIOLOGIQUES

1.2.1 BASES BIOLOGIQUES

Cette pathologie est caractérisée par un déficit de conversion de la Phe en Tyr, fonction assurée par l'enzyme phénylalanine hydroxylase (PAH). (Figure 1)

La PAH nécessite la présence de son cofacteur la tétrahydrobiopterine (BH₄), ainsi que de l'oxygène moléculaire O₂ pour réaliser la réaction d'hydroxylation de la Phe en Tyr. La réaction oxyde le BH₄ en 4-hydroxytétrahydrobiopterine, qui est ensuite prise en charge par une 4- α -carbinolamine déshydratase et la dihydroptéridine réductase (DHPR) pour régénérer le BH₄. Ainsi l'activité de l'enzyme PAH mais aussi la quantité disponible du cofacteur sont essentiels à l'hydroxylation de la Phe en Tyr.

Cette enzyme a une localisation cellulaire cytoplasmique et est présente en grande partie sous forme tétramérique.

La PAH contient en son site actif un atome de fer, celui-ci est essentiel à son activité catalytique et interagit avec les histidines 285 et 290, ainsi qu'avec la glutamine 330. Trois molécules d'eau sont liées à cet atome de fer (Erlandsen et Stevens 1999). Il apparait que quand la Phe et le BH₄ 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'O₂ et l'hydroxylation couplée de la Phe et du BH₄.

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).

Il existe des formes plus ou moins sévères d'HPA. Cette gradation est due à l'existence d'une très grande variété de mutations au sein des gènes codant non seulement la PAH, mais aussi les enzymes impliquées dans la synthèse et le recyclage de la BH₄.

Certaines mutations sont plus incapacitantes que d'autres, et il en découle un éventail de phénotypes métaboliques. Néanmoins les mutations les plus fréquentes touchent le gène de la PAH.

La concentration moyenne en Phe plasmatique libre est de 60 μ M chez l'individu sain. Les HPA sont classées en HPA modérée ou en phénylcétonurie selon que la concentration plasmatique en Phe libre soit inférieure ou dépasse 1 mM (ou 16,5 mg/dl), ou que la tolérance à l'ingestion de Phe soit supérieure ou inférieure à 500 mg/jour.

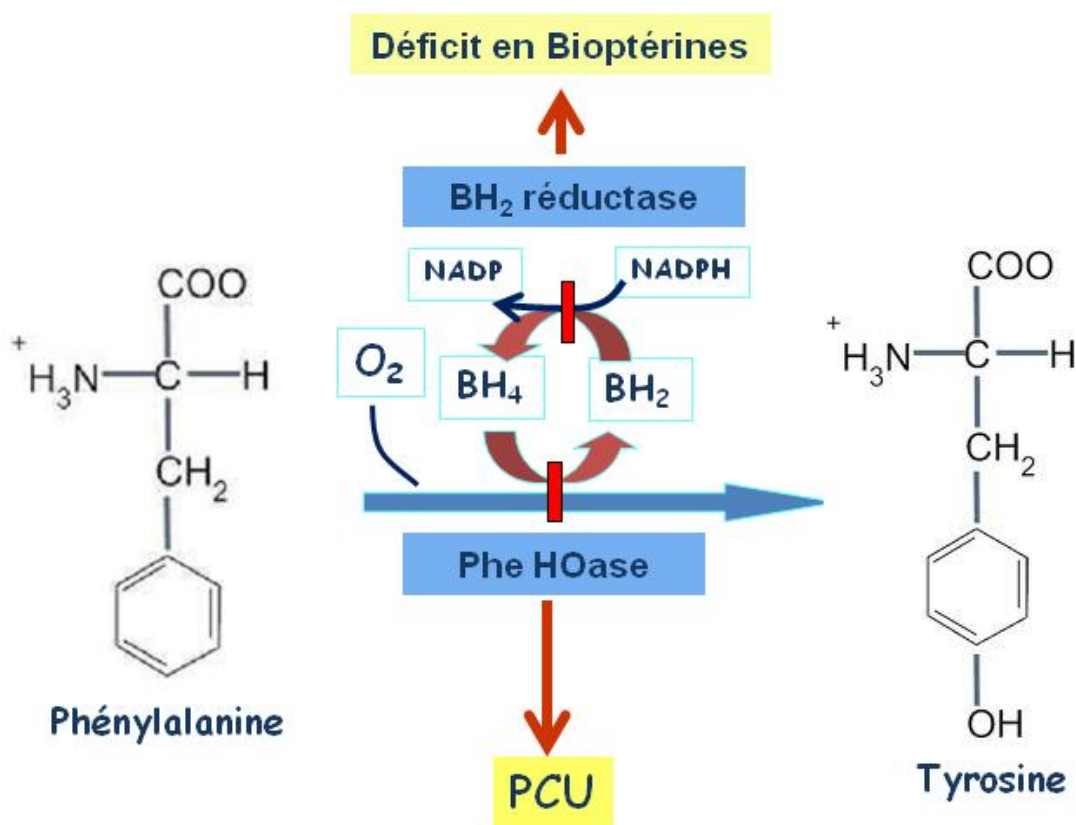


Figure 1 : Hydroxylation de la Phénylalanine et ses anomalies

1.2.2 TISSUS EXPRIMANT LA PAH

La PAH est l'objet d'une expression ciblée au sein de l'organisme chez les mammifères. On a d'abord pensé que cette expression se limitait au parenchyme hépatique. Il a ensuite été démontré par Northern Blot, immunohistochimie et essai enzymatique que si elle est principalement exprimée par les hépatocytes, la PAH l'est aussi de manière significative par le parenchyme rénal (Lichter-Konecki et al. 1999; Tessari et al. 1999). Globalement, 80% de l'activité phénylalanine hydroxylase est à attribuer au foie pour 20% au rein (Scriver et Kaufman 2008).

1.2.3 METABOLISME

Les flux de Phe au sein du corps humain peuvent être séparés en entrées et sorties. Les entrées proviennent principalement de la Phe exogène alimentaire et la Phe endogène intégrée aux protéines. Les sorties consistent en son hydroxylation en Tyr, l'incorporation de la Phe lors de la synthèse protéique, sa transamination et sa décarboxylation. En conditions normales, l'hydroxylation est le mécanisme majeur et est responsable de 75% des sorties de Phe. La synthèse protéique permet la sortie de 25% de la Phe libre plasmatique, tandis que la transamination et la décarboxylation n'ont qu'un effet mineur (Scriver et Kaufman 2008). Les flux de Phe entrants au sein de l'organisme sont régis par un transport actif couplé à un gradient d'ion Na⁺ au pôle apical des entérocytes et des cellules des tubules rénaux, et par des transporteurs non dépendants de gradients ioniques aux autres membranes plasmiques (Christensen 1986; Christensen 1987).

L'hydroxylation de la Phe est l'étape limitante de son catabolisme en H₂O et CO₂ par oxydation. Les voies de céto-genèse et gluconéogenèse peuvent utiliser la Phe comme substrat, mais sa prise en charge par ces voies métaboliques nécessite sa conversion préalable en Tyr. (Figure 2)

Il existe au niveau du néphron un puissant système de reprise des acides aminés empêchant toute excrétion urinaire de la Phe sous sa forme primitive. Ce système, composé de transporteurs de haute et faible affinité, est capable d'une réabsorption presque totale de la Phe à partir du filtrat glomérulaire et ce, même en condition de phénylcétonurie (Christensen 1982; Christensen 1986; Christensen 1987).

Chez les patients PCU la Phe, ne pouvant être ni métabolisée, ni excrétée sous sa forme primitive, s'accumule et sa concentration plasmatique augmente.

Elle est alors déviée vers des voies d'excrétion normalement accessoires, principalement la voie de transamination. Cette voie convertit la Phe en phénylpyruvate puis en d'autres métabolites comme le phénylacétate par modification de la chaîne alanine (Figure 2).

Ces dérivés peuvent être excrétés par voie urinaire, et de par leur nature cétonique, sont à l'origine de l'appellation phénylcétonurie. La voie de décarboxylation de la Phe en phényléthylamine reste quant à elle anecdotique, quelque soit le niveau plasmatique de Phe (Scriver, et Kaufman 2008).

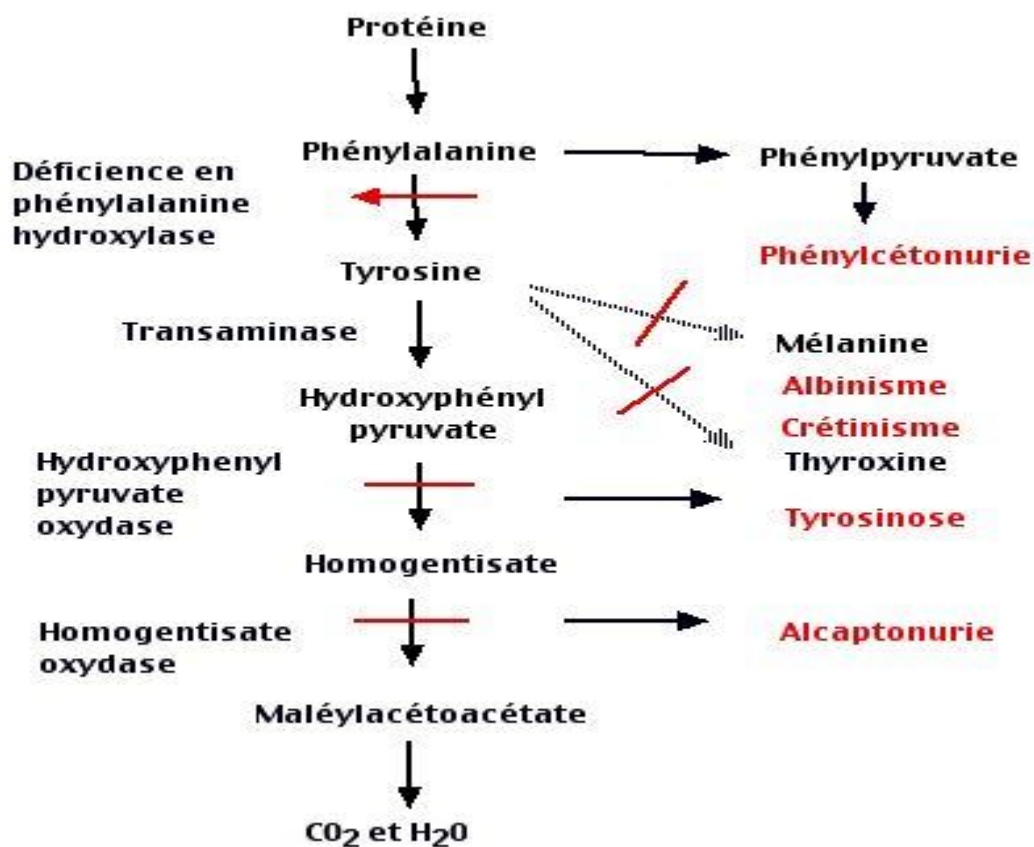


Figure 2 : Métabolisme de la phénylalanine

1.2.4 CLASSIFICATION

Il est classique de distinguer deux formes de la maladie selon les taux de Phe obtenus sous régime normal pour l'âge :

- la PCU qui nécessite une prise en charge thérapeutique (régime restrictif contrôlé) :
 - la PCU typique (Phe > 20 mg/dl [1200 µmol/l]),
 - la PCU atypique (10mg/dl [600 µmol/l] < Phe < 20 mg/dL [1200 µmol/l]) ;
- l'hyperphénylalaninémie modérée permanente (HMP) : Phe < 10 mg/dl, [600 µmol/l] ne nécessitant qu'une surveillance (régime ne comportant pas de produits spéciaux).

1.2.5 GENETIQUE

Il fut découvert très tôt, en 1935, que la phénylcétonurie était due à un trait récessif. C'est la maladie métabolique d'origine génétique la plus fréquente dans la population caucasienne, avec une fréquence de 1/11600 naissances. 98% des mutations associées à une hyperphénylalaninémie prennent place au locus PAH, les 2% restants étant dus à des mutations dans le système de régénération du cofacteur de l'enzyme, le BH4.

Ce gène est pleinement identifié, il est localisé sur le chromosome 12, dans la région 12q24.1 sur le bras long. Il comprend 13 exons répartis sur une longueur de 90 Kb (kilobases).

La figure 3 représente les 528 mutations connues en 2007. (Dobrowolski S., 2007)

Une grande variété d'allèles PAH est présente de nos jours et plus de 700 mutations ont été répertoriées. La majorité de ces allèles pathologiques est rare. En effet il n'existe que 5 allèles pathologiques largement répandus.

La plupart des mutations sont des mutations ponctuelles (mutations non-sens, mutations faux-sens), ces allèles mutants présentent une substitution dans 63% des cas, 13% ont de petites délétions (<22 pb), 12,8% ont une modification de l'épissage de l'ARN messager, 5,4% ont un codon stop précoce, 3% présentent une large délétion et 1% de petites insertions (Kozak et al. 2006).

En général, ces mutations peuvent se produire dans l'un des exons, dans les jonctions d'épissage des introns, ou dans d'autres domaines du gène, comme dans la région du promoteur. (Figure 4)

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 F., 2006)

Les données génotypiques ne modifient pas l'attitude thérapeutique initiale et la corrélation génotype/ phénotype n'est pas absolue pour la sensibilité au BH4.

Le génotypage est, néanmoins, important car l'analyse mutationnelle permet de dépister les patients ayant des mutations dites "BH4-sensibles" et qui ne réagissent pas aux doses habituelles. Ces patients pourraient avoir une absorption digestive faible de BH4 et avoir besoin de doses supérieures, par voie orale, pour exprimer leur sensibilité au cofacteur de la PAH. (Feuillet F., 2006)

Des études récentes de la structure cristalline de la PAH ont fourni des informations sur le site actif et les sites de liaison de ses substrats et de son cofacteur. Elle dispose de trois domaines structuraux constitués d'un domaine N-terminal de régularisation, un domaine catalytique central, et un domaine de tétramérisation terminal. L'enzyme PAH active est composée de quatre protéines monomères. (Figure 4) (Kim S. et al., 2006)

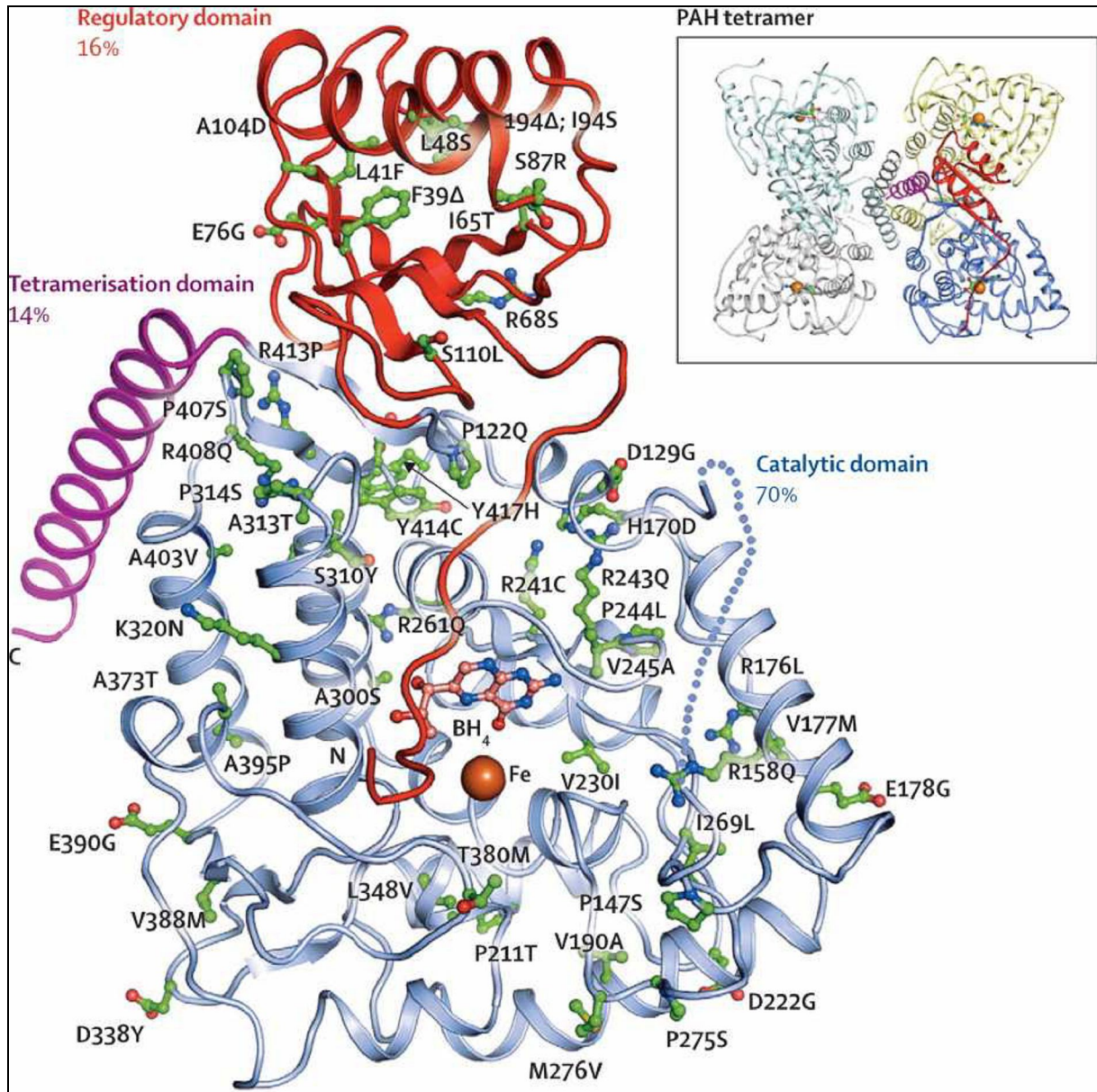


Figure 4: Structure cristalline tridimensionnelle de la phénylalanine hydroxylase humaine. (Blau N. et al., 2010)

Cette structure cristalline met en évidence la plupart des mutations : 70% sont dans le domaine catalytique (en bleu), 16% des mutations sont dans le domaine de régulation (en rouge), et 14% sont dans le domaine tétramérisation.

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. (Blau N. et al., 2010)

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.

En Europe, environ 50% des cas de PCU sont dus à seulement deux mutations. Celles-ci modifient la partie C-terminale de la protéine et interfèrent avec les domaines catalytiques et de tétramérisation. La mutation **IV12nt1g->a** engendre une délétion de l'exon 12 par modification de l'épissage (Marvit et al. 1987). La mutation **R408W** entraîne le remplacement d'une arginine par un tryptophane au début de l'hélice caractéristique du domaine de tétramérisation. Il en résulte dans les deux cas une enzyme incapable de tétramériser et à activité quasiment nulle.

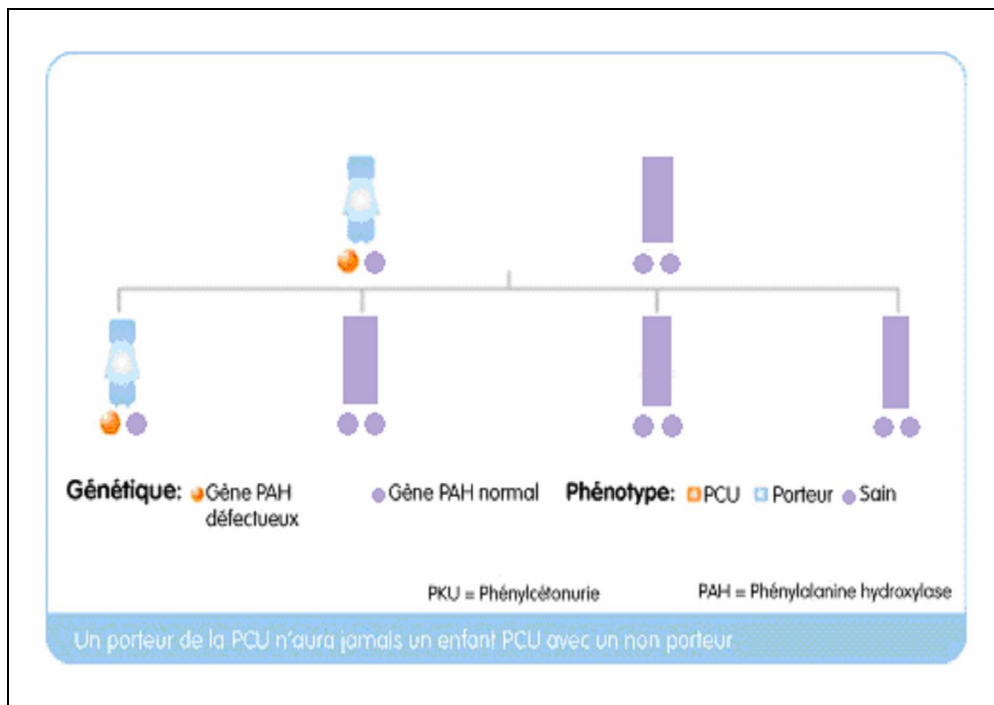
Dans des pays méditerranéens, plusieurs mutations ont été rapportées. La plus commune : **IVS10-11G >A** semble être répandue. La mutation *p.G352fsdelG* a été rapportée au sein de la population Algérienne, Italienne, Canadienne, Française, Croate et Libanaise (Lyonnet et al. 1989). Elle entraîne une délétion de la Guanine sur le 352ème codon du gène de la PAH. Il en résulte un changement du cadre normal de lecture au niveau de l'ARNr.

Au Maroc, il a été décrit récemment lors d'une étude menée sur 20 familles atteintes de PCU de différentes régions du Maroc, que la mutation *p.G352fsdelG* est la mutation prédominante et elle est située sur l'exon 10. Cette suppression

introduit un cadre de lecture dans la séquence codant pour la protéine, conduisant ainsi à une forme sévère de la maladie. (Dahri et al. 2010).

La mutation **E280K** a été aussi rapportée dans des populations méditerranéennes (Guldberg et al. 1993).

La Figure 5 montre les combinaisons génétiques possibles : (D'après <http://www.pku.com/fr>)



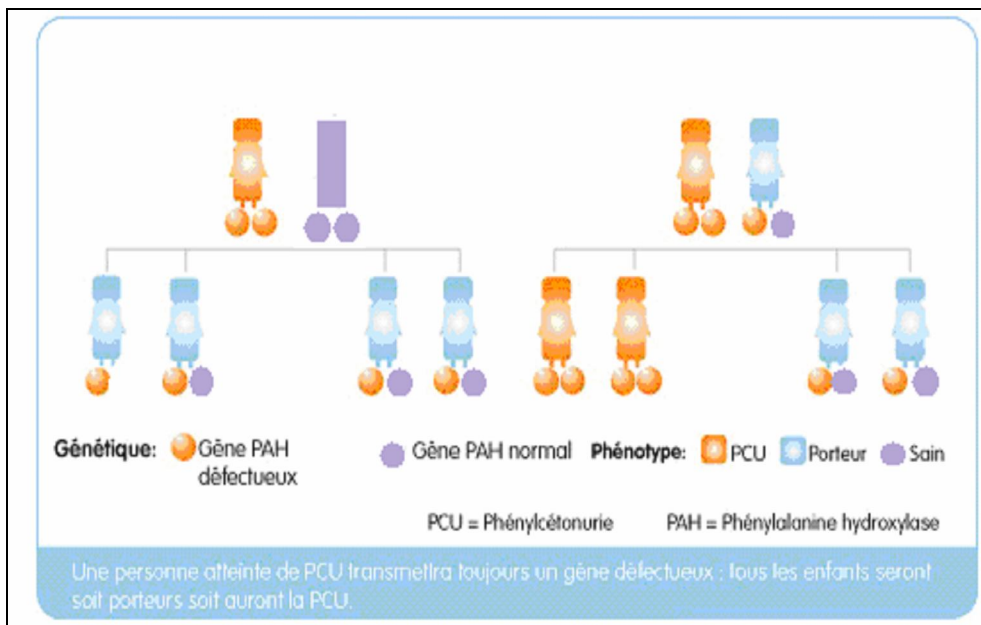
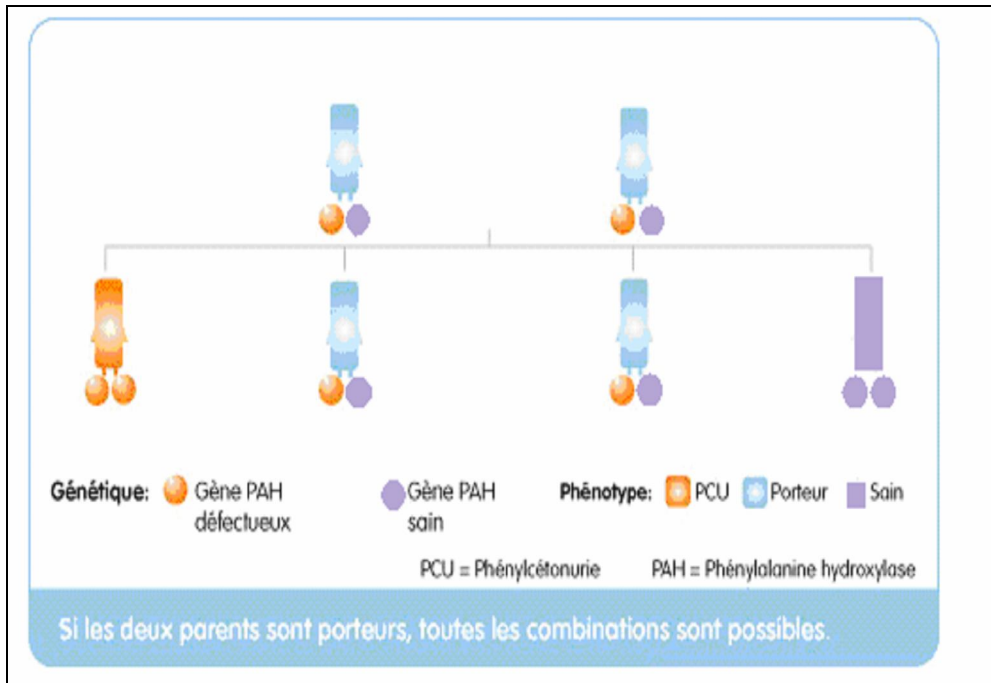


Figure 5 : Combinaisons génétiques possibles pour la PCU

Le risque de survenue de la maladie chez un autre enfant d'un couple ayant déjà un enfant atteint est de 1 sur 4 si ceux-ci ne sont pas malades.

Une consultation génétique peut être proposée 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.

1.3 ASPECTS CLINIQUES

Nous allons étudier les manifestations cliniques de la PCU chez les personnes non traitées puis chez celles ayant suivies un traitement précoce.

1.3.1 LA PHENYLCETONURIE NON TRAITEE

Depuis la mise en place du dépistage néonatal, ce tableau n'est plus guère rencontré mais certains nouveau-nés peuvent échapper au dépistage et, malgré la fiabilité du test, les faux-négatifs restent possibles.

Le tableau clinique comprend un retard mental progressif. Le retard mental est défini par l'existence avant l'âge de 18 ans d'un « fonctionnement intellectuel significativement en dessous de la moyenne associé à des limitations des fonctions adaptatives ». Les tests standardisés de mesure du quotient intellectuel (QI) permettent de chiffrer le déficit cognitif. (Goldenberg A. et al., 2010)

Le retard de développement intellectuel est le signe le plus constant et le plus grave de la phénylcétonurie. Il est souvent associé à une microcéphalie progressive. L'électroencéphalogramme (EEG) est anormal dans 78 à 95 % des cas mais 25% seulement des patients présentent des convulsions de type grand mal ou spasmes infantiles.

Les troubles du comportement sont fréquents souvent de type psychotique avec hyperactivité, agressivité et accès incontrôlé d'hyperexcitation. Ces signes neurologiques s'associent à des troubles des phanères avec une

hypopigmentation globale : peau pâle, cheveux blonds, yeux bleus ; associée à un eczéma dans 20 à 40 % des cas. (Gentile J-K et al., 2010)

Chez les patients plus âgés, le retard mental parfois profond associé à des troubles du comportement est habituel : auto agressivité, comportement autistique. Des syndromes proches de la schizophrénie ont été décrits. D'autres signes neurologiques (hypertonie globale, syndrome pyramidal, tremblements, syndrome parkinsonien) peuvent être observés avec une fréquence variable.

En général le niveau de déficit intellectuel est stable après l'enfance bien que l'on ait pu observer des détériorations neurologiques chez l'adulte avec la mise en évidence de processus de démyélinisation. (Feuillet F., 2006)

1.3.2 LA PHENYLCETONURIE DEPISTEE ET TRAITEE

Le dépistage néonatal combiné à un régime restreint en Phe, a permis d'améliorer les manifestations cliniques les plus graves de la PCU.

Cependant depuis quelques années, des études ont démontrées les limites de la prise en charge de cette maladie sur l'évolution du tableau clinique des patients.

Nous allons nous pencher sur diverses publications scientifiques parues depuis 2000, pour faire un état des lieux des pathologies associés à la PCU sous régime hypophénylalaninémique.

Ainsi, nous nous arrêterons sur les troubles neurologiques et psychologiques, sur la croissance et enfin sur les pathologies osseuses des phénylcétonuriques.

1.3.2.1. Troubles neurologiques et psychologiques

Les études ont montré chez les enfants et les adultes traités, l'apparition des symptômes neurologiques et des perturbations émotionnelles et comportementales.

- 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. (Hanley W-B, 2004)

- Chez les adultes

Chez les adultes, les mêmes troubles ont été révélés. Ils peuvent également souffrir d'un manque d'autonomie, peuvent avoir tendance à développer des idées dépressives, une anxiété, des phobies, des difficultés sociales d'isolement. (Brumm V. et al., 2010)

Ces facteurs psycho-sociaux peuvent s'expliquer par le poids que représente cette maladie chronique au quotidien. Non identifiés et non traités, ces problèmes émotionnels peuvent avoir un impact significatif sur la qualité de vie et le statut social des individus atteints de PCU.

Les patients adultes atteints de PCU qui ont été traités précocement et qui ont arrêté leur régime peuvent développer des signes neurologiques mineurs tels que des tremblements, des réflexes ostéotendineux vifs ou des troubles de la coordination motrice. Plus rarement, des atteintes neurologiques plus sévères ont été décrites : paraparésie spastique (maladies neurodégénératives caractérisées

par une spasticité progressive et une hyperréflexie des membres inférieurs), épilepsie de survenue tardive, ataxie et tremblement. (Christ S. et al., 2010)

Ces troubles sont proches de ceux décrits chez les patients phénylcétonuriques qui n'ont jamais été traités. Ils pourraient être liés à un mauvais contrôle métabolique initial, lors de la prise en charge pédiatrique car il n'a pas été rapporté à ce jour de détérioration neurologique chez les patients traités précocement et chez qui un bon contrôle métabolique a été obtenu. Un suivi prolongé des patients adultes permettra de déterminer s'il existe réellement un risque neurologique à long terme.

1.3.2.2 La croissance et la nutrition

Des anomalies de croissance dues à des déficiences nutritives ont été mises en relief par les différents articles étudiés.

- Enfants et adolescents

Les enfants PCU suivant un régime alimentaire seul, présentent souvent un retard de croissance, une diminution de la circonférence crânienne par rapport à la normal, un indice de masse corporelle (IMC) élevé. Ces troubles se comprennent par l'apport insuffisant de divers nutriments, vitamines et oligoéléments comme le calcium, le zinc, le cuivre, le sélénium, le fer, la vitamine A et par le déséquilibre alimentaire que peut provoquer le régime. (Christ S. et al., 2010)

- Adultes

Les adultes présentent les mêmes carences mais il a été mis en évidence des carences particulières en vitamine B12 et une hypertryglycémie rencontrée chez près de 70% des patients. (Enns G. et al., 2010)

1.3.2.3 Pathologies osseuses

- Enfants

Des déséquilibres dans la résorption et la formation osseuse ont été décrits induisant des diminutions de densité minérale osseuse et des altérations des dents définitives de certains enfants. Ces déséquilibres augmentent le risque de fracture et de maladies osseuses chez cette population.

- Adultes

Les ostéopénies dont l'ostéoporose sont fréquentes chez les adultes PCU traités. Les fractures sont courantes. Les ostéoclastes sont pointés du doigt ainsi que les carences à long terme de calcium, de vitamine D et d'oligoéléments pour expliquer ces pathologies. (Enns G., 2010)

Récemment des excrétions accrues des marqueurs de la résorption osseuse ont été documentées. Elles auraient comme origine une trop grande activité des ostéoclastes. (Porta F., 2008)

La mise en évidence de ces troubles souligne l'importance de la mise en place précoce du traitement et soulève la question de la durée du régime. Beaucoup d'équipes préconisent le maintien à vie du régime en espérant à long terme diminuer les conséquences neuropsychologiques de cette population PCU par rapport à la population générale. Cette attitude est cependant discutable lorsque l'on considère l'impact social que peut avoir un régime très strict en protéines. (François L., 2000)

1.4 EPIDEMIOLOGIE

La prévalence de la PCU varie grandement à travers le monde. En Europe, elle est en moyenne d'une naissance sur 10 000 mais fluctue entre 1/ 3000 et 1/ 30 000 selon les pays. (Tableau I)

La PCU est détectée dans une naissance sur 2 500 en Turquie et dans une naissance sur 4500 dans le nord de l'Irlande. (Ces taux élevés s'expliqueraient par la forte proportion de consanguinité au sein de ces pays.)

Aux Etats-Unis, la prévalence est de 1/ 15 000, en Amérique latine elle varie de 1/50 000 à 1/ 25 000 naissances.

En Chine, elle est de 1/ 100 000, en Thaïlande de 1/ 20 000, au Japon de 1/ 143 000.

L'Afrique semble avoir une faible prévalence (1/100 000). (Blau N. et al., 2010)

En Tunisie, la prévalence est de 1/ 7631(Khémir et al. 2011).

Au Maroc, aucune étude épidémiologique n'a été réalisé jusqu'à ce jours, donc la prévalence de la PCU au Maroc est encore inconnue.

En France, la fréquence est connue grâce au dépistage néonatal systématique. Entre 1975 et 2009, 27 millions de nouveau-nés ont bénéficié du dépistage en France.

Les DOM-TOM sont très peu concernés par cette maladie. La fréquence des hétérozygotes est variable en fonction des ethnies. En France, cette fréquence est estimée à 1/65. (HAS, 2010)

Tableau I: Prévalence de la PCU dans les principaux pays d'Europe.

PAYS	PREVALANCE
France	1/17 292
Angleterre	1/10 000
Italie	1/3 654
Espagne	1/6 532
Allemagne	1/8 553
Irlande du Nord	1/4 500

1.5 LE DEPISTAGE NEONATAL

1.5.1 INTRODUCTION

La PCU n'est pas la plus fréquente des maladies génétiques, mais elle occupe une place privilégiée dans les **erreurs innées du métabolisme** en raison d'un pari

« fou » tenu il y a 50 ans lorsque Horst Bickel écrivait : « *It is reasonable to presume that the best results of dietetic treatment of phenylketonuria will be obtained if treatment is started in infancy and particularly in the neonatal period* »

« *Il est raisonnable de présumer que la diététique de la PCU apporterait des meilleurs résultats si seulement elle débutait durant l'enfance et particulièrement dans la période néonatale.* »

Pari relevé par Bob Guthrie qui, en 1962 mit au point une méthode simple de mesure de la Phe adapté à un mode de prélèvement particulièrement pratique:

La « tache de sang séché » et pari réussi par l'ensemble des systèmes de santé européen et des très nombreux pays du monde, après la mise en place d'un dépistage systématique de la PCU à la naissance.

Ce pari n'est pas encore réussi par le système de santé Marocain car, jusqu'à ce jour un programme national du dépistage néonatal systématique de la PCU n'a pas encore vu le jour.

Dans un premier temps nous allons étudier la mise en place et l'organisation d'un tel programme et dans un second temps nous nous pencherons sur le dépistage à proprement parlé de la PCU : le test de Guthrie.

1.5.2 MISE EN PLACE DU DEPISTAGE NEONATAL

Le dépistage néonatal a pour objectif de porter le plus précocement possible, chez des nouveau-nés asymptomatiques, le diagnostic de certaines maladies graves afin de mettre en œuvre dans les meilleures conditions, le traitement adapté aux maladies dépistées. (Briard M.L., 2002)

En 1968, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a défini les critères auxquels devait répondre une maladie pour justifier un dépistage de masse :

- la maladie représente un problème important de santé publique.
- elle est détectable à un stade précoce, avant ou tout au début de l'apparition de symptômes cliniques.
- son évolution est connue.
- il existe un traitement efficace préventif ou curatif de la maladie.
- on dispose d'un test de détection fiable au stade préclinique.
- ce test est acceptable par la population en général et recueille l'assentiment du sujet testé ou, si c'est un enfant, de ses parents, qui doivent bénéficier d'une information claire sur la nature du test, la signification des résultats et les possibilités thérapeutiques.
- le malade dépisté peut être examiné, traité et suivi dans le cadre de structures médicales performantes.
- le programme de dépistage doit pouvoir être pérenne.
- le coût du dépistage doit être modéré et ne pas excéder celui de la prise en charge du malade. (Ardaillou R. et al., 2007)

Lors des discussions pour la mise en place d'un tel dépistage, la PCU répondait parfaitement aux critères ci-haut.

Mais avant tout, le dépistage doit être accepté par les parents et par conséquent il convient de leur fournir des explications claires sur sa réalisation et ses enjeux. Tout résultat positif doit conduire à la prise en charge immédiate du nouveau-né. Enfin, tout programme de dépistage organisé doit être évalué régulièrement. (Ardailou R. et al., 2007)

1.5.3 ORGANISATION DU DEPISTAGE NEONATAL

Dans ce chapitre, nous nous inspirerons du modèle de l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) qui est une fédération d'associations.

L'AFDPHE est chargée par le ministère de la santé et la Caisse Nationale d'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés (CNAMTS) d'organiser, de coordonner et de suivre la réalisation du programme national de dépistage néonatal systématique sur tout le territoire français. Ce programme est intégralement financé par la CNAMTS, dans le cadre d'une convention nationale.

Dans chaque région, l'AFDPHE est représentée par une association régionale qui assure l'organisation et le suivi de la totalité du programme au niveau de son territoire: de l'information et du prélèvement de sang en maternité jusqu'à la prise en charge des malades dépistés. (Dhondt J-L, 2008)

Cette organisation multicentrique assure une coordination entre les différents acteurs professionnels d'une région et une proximité d'accès identique sur tout le territoire national.

Elle s'entoure des compétences professionnelles nécessaires, et s'appuie pour l'aider dans sa mission sur des commissions spécialisées chargées de la conseiller à propos des techniques de dépistage (matériels et réactifs), des

protocoles de traitement à recommander, de l'information à mettre en place et de l'éthique. (Farriaux J-P. et al., 2003)

Intéressons nous à la réalisation technique du dépistage de la PCU.

1.5.4 REALISATION DU DEPISTAGE : LE TEST DE GUTHRIE

Dans grand nombre des pays, le prélèvement de sang pour le test de Guthrie est actuellement réalisé chez tous les nouveau-nés au troisième jour de vie par une piqûre au talon.

Le prélèvement sanguin utilisé est un prélèvement capillaire.

Un prélèvement veineux peut lui être préféré en raison de la douleur moins importante de ce type de prélèvement mais les recommandations internationales demeurent le prélèvement au talon (le « heel prick » ou « heel stick » des anglo-saxons).

Pour réduire la douleur du nourrisson, des mesures sont associées au prélèvement comme l'allaitement maternel, le contact peau à peau, la position du bébé sur le ventre.

L'usage des lancettes modernes a permis de minimiser la pression sur le talon pour obtenir les gouttes de sang, pression qui est en grande partie responsable de l'épisode douloureux. (Dhondt J-L., 2010)

Les gouttes de sang sont ensuite déposées sur un papier buvard standardisé que l'on laisse sécher à température ambiante (un disque de 6 mm imprégné de sang séché équivaut à 10 μ L de sang). (Figure 6)

Sont notés sur le papier buvard, des éléments d'identification du nouveau-né. La qualité du remplissage des taches de sang est essentielle car les automates sont étalonnés pour un certain taux d'hémoglobine/ cm^2 de carton buvard. De la

qualité du relevé des informations sur le nouveau-né dépend la facilité à le retrouver en cas de résultat positif.

La méthode de dépistage de la PCU communément utilisée par les laboratoires en France est la fluorimétrie. La Phe réagit avec de la ninhydrine en présence de cuivre pour former un complexe fluorescent permettant de la doser.

(Thioulouse E. et al., 2010)

Aujourd'hui les centres de dépistage s'orientent vers une méthode de mesure de la Phe plasmatique libre par spectrométrie de masse à partir d'un échantillon sanguin séché sur buvard. Cette technique quantitative permet non seulement de détecter les déviations du taux de Phe de manière plus sensible, mais aussi de soumettre le même échantillon sanguin à plusieurs tests de dépistage pour différentes maladies génétiques.



 <p>Remplir les 7 cercles</p>			 <p>A remplir uniquement si N-Né à risque de Drépano.</p>
1	2	3	4
NOM : Né(e) le :		N-Né à risque de Drépanocytose : OUI <input type="checkbox"/>	
Prénom : Prélevé(e) le :		Terme (SA) :	
Sexe : M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/>		Poids (g) :	
Nom J.F. Mère :		Transfusé ? oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/>	
Lieu d'accouchement et Code :		N° d'accouchement :	
Lieu (si différent) du prélèvement et Code :		Médecin à contacter si nécessaire :	
Adresse des parents :		Ville :	
Tél. :		Ville :	

Figure 6 : Carte de Guthrie. (AFDPHE, 2009)

1.5.5 LE DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

Il existe d'autres causes d'HPA hors la PCU et les déficits des bioprotéines.

Le diagnostic différentiel se pose essentiellement devant un dépistage néonatal positif c'est à-dire devant un taux de Phe plasmatique supérieur à 3 mg/dL. Un certain nombre d'hyperphénylalaninémies secondaires se rencontrent, nous allons les classer selon qu'elles engendrent ou non une hypertyrosinémie associée : (Feuillet J., 2004)

- avec hypertyrosinémie :
 - HPA transitoire (qui touche surtout les prématurées).
 - Augmentation de la prise alimentaire de protéines.
 - Maladie hépatique (incluant galactosémie et tyrosinémie).
- sans hypertyrosinémie :
 - Secondaire à la prise d'un médicament (triméthoprime, methotrèxate, antifolate).
 - Maladie inflammatoire sévère et rénale.

1.5.6 LE DIAGNOSTIC DES ENFANTS ET DEPISTAGE ORIENTEE DE LA PCU

En Europe comme dans nombreux pays où le dépistage néonatal de la PCU est réalisé, le diagnostic de la PCU chez les jeunes enfants s'adresse exclusivement à ceux qui sont nés avant l'instauration du dépistage néonatal systématique ou à ceux qui sont nés dans des 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 des adultes s'effectue généralement par un dosage des acides aminés plasmatiques.

Au Maroc, nous ne parlerons pas de dépistage néonatal systématique puisqu'il n'est pas encore mis en place. On parlera plutôt de « dépistage orientée ». Le laboratoire des maladies métaboliques du CHU Ibn Sina de Rabat s'oriente d'une part au diagnostic de la PCU chez les nouveau-nés présentant une embryofetopathie accompagnée d'une microencéphalie, d'un retard de croissance, d'une débilité mentale,...d'autre part au dépistage des nouveau-nés provenant des familles où un membre de la fratrie est phénylcétonurique.

Le diagnostic des adultes sains (Parents, membres de la fratrie) a plutôt un intérêt préventif, le but étant de rechercher les sujets hétérozygotes c'est-à-dire ceux qui sont porteurs d'une mutation ou non. Le dosage de la Phe dans ce cas a peu d'intérêt, le diagnostic se fait uniquement par biologie moléculaire.

1.6. TRAITEMENT DE LA PHENYLCETONURIE

1.6.1 LE REGIME DES PHENYLCETONURIQUES

Le régime alimentaire pauvre en Phe s'est imposé très vite comme le traitement de première ligne pour contrôler la phénylalaninémie. Nous allons dans un premier temps nous pencher sur les apports nutritionnels spécifiques d'un enfant PCU puis décrire dans un second temps les aliments et substituts alimentaires qui lui sont propres.

1.6.1.1 Les apports nutritionnels spécifiques de l'enfant phénylcétonurique

a.) Apports énergétiques

Chez l'enfant PCU, un régime légèrement hypercalorique est préconisé. En effet, tout déficit énergétique est susceptible de perturber la balance protéique et de favoriser une protéolyse qui entraînerait une augmentation de la Phe. De plus,

la substitution des protéines par les mélanges d'acides aminés peut conduire à des apports énergétiques inférieurs aux recommandations.

La consommation protéinoénergétique doit donc être contrôlée et adaptée aux besoins de chaque enfant. (Peyne E. et al., 2006)

b.) Apports lipidiques

Le régime des enfants PCU comporte souvent un déséquilibre qualitatif en lipides.

En effet, le régime contient une forte proportion d'acide linoléique au détriment de l'acide α -linoléique.

De plus, l'apport en précurseurs des acides gras polyinsaturés à longue chaîne (AGPILC) des familles n-6 (acide arachidonique ARA) et n-3 (acides docohexaénoïque DHA et eicosapentaénoïque EPA), est presque négligeable, puisque les principales sources de ces acides gras (viande, œuf, poisson) sont exclues du régime.

Ainsi, chez le sujet PCU traité par un régime adapté, on note une réduction des taux de DHA et d'EPA et de tous les AGPI n-3 alors que les AGPI n-6 voient leurs taux augmentés.

De ce fait, des suppléments en DHA et en ARA sont recommandés afin de maintenir des taux normaux de ces acides gras.

L'alimentation doit donc être supplée en acides gras polyinsaturés à longues chaînes et ceci est d'autant plus important qu'ils sont indispensables au développement des structures nerveuses et cérébrales et au développement de la rétine au cours des premiers mois de vie. (Peyne E. et al., 2006)

c.) Apports glucidiques

La consommation de glucides tend à être plus élevée chez les sujets PCU avec une consommation plus importante en glucides facilement digestibles. (Farriaux J-P et al., 2000)

d.) Apports en fibres

La consommation de fibres est souvent en dessous des apports recommandés.

e.) Apports protéiques

Toute protéine naturelle contient de la phénylalanine, les protéines animales (5 %) en contiennent un peu plus que les protéines végétales (4 %). On ne peut donc restreindre l'apport en phénylalanine sans réduire l'apport en protéines. Comme les protéines sont indispensables à la croissance, il est nécessaire d'avoir recours à des produits de substitution dépourvus totalement ou partiellement de cet acide aminé.

Il est important de fractionner les apports journaliers de mélange d'acides aminés en trois prises au moins, tout en associant un apport de protéines naturelles (fournissant la quantité de PHE autorisée), afin d'assurer une synthèse protéique suffisante.

(Peyne et al., 2006)

f.) Apports en Phénylalanine

Pour déterminer les apports en Phe d'un sujet PCU, il faut tenir compte d'un facteur essentiel qui est la tolérance en Phe.

Il s'agit de la quantité de Phe à apporter dans l'alimentation de l'enfant, sachant qu'elle se situe entre le besoin minimum nécessaire pour assurer la croissance et celle permettant de maintenir les taux sanguins dans la fourchette thérapeutique.

C'est le cas des phénylcétonuries atypiques qui peuvent tolérer 500 mg par jour. Pour d'autres, la marge entre le minimum indispensable et le maximum toléré est très étroite.

Chez les phénylcétonuriques typiques, la tolérance est inférieure à 350 mg/j. Pour un même malade, cette tolérance peut aussi varier dans le temps. Cela est particulièrement vrai lors des poussées de croissance où les besoins protéiques sont plus élevés et où l'organisme peut tolérer davantage de Phe.

Elle peut également varier en fonction de l'activité physique, les besoins étant plus grands en période d'activité qu'en période de repos. (Peyne E. et al., 2006)

g.) Apports en tyrosine

La tyrosine devient un acide aminé quasi essentiel de la PCU en raison de l'hydroxylation limitée de la Phe en tyrosine. Donc l'alimentation des phénylcétonuriques doit être supplée en tyrosine, c'est pourquoi les substituts protéiques sont généralement enrichi en tyrosine.

Les besoins de cet acide aminé chez les enfants PCU seraient en moyenne entre 16,3 mg/kg/jour et 19,2 mg/kg/jour. (Bross R. et al., 2000)

h.) Apports en vitamines sels minéraux et oligoéléments

Les substituts protéiques utilisés dans le régime des patients phénylcétonuriques sont pour la plupart, enrichis en vitamines B12, minéraux et oligoéléments afin de compenser les apports naturels des aliments riches en protéines. Malgré cette supplémentation, on note parfois quelques déficiences. (Peyne E. et al., 2006)

1.6.1.2 Aliments utilisés dans le régime

La mise en place du régime chez le patient phénylcétonurique nécessite une connaissance approfondie de la composition des aliments utilisés de façon à éviter toute surcharge ou carence en Phe. Le traitement diététique est fondé sur

l'utilisation de différents types d'aliments : les aliments naturels, les substituts protéiques pauvres ou totalement dépourvus en Phe, et les produits hypoprotéiques.

a.) Aliments naturels

La Phe est présente dans pratiquement tous les aliments naturels en dehors des graisses, de certains produits purs sucres et de certaines farines.

Les aliments d'origine animale (viande, produit laitier, œuf, poisson), certaines céréales et certains légumes ont une teneur trop forte en protéines pour pouvoir être utilisés. En pratique, pour couvrir les besoins en Phe on utilise les légumes et les fruits à teneur protéique faible. (François L. et al., 2000)(Tableau II)

Tableau II: Les principales catégories d'aliments utilisées dans le régime des patients PCU

Aliments interdits	Aliments autorisés à volonté	Aliments contrôlés
<ul style="list-style-type: none"> - Produits laitiers - Viandes- poissons-œufs - Charcuteries - Céréales et dérivés, farine de blé, pains, viennoiseries, biscottes, pâtes, riz... - Légumes secs - Fruits secs et oléagineux - Boissons et produits sucrés avec aspartame - Bonbons avec lait et Gélatine 	<ul style="list-style-type: none"> -Beurre - Margarines - Huiles - Sucre - Confitures - Miel - Jus de fruits, soda sans aspartame - Bonbons (sucre cuit), pâtes de fruits - Glaces à l'eau - Condiments -Produits hypoprotidiques 	<ul style="list-style-type: none"> -Lait de vache et laits infantiles - Farines infantiles - Légumes - Fruits frais, compotes - Substituts protéiques

b.) Substituts protéiques

Les substituts protéiques sont des aliments artificiels, plus ou moins complets, commercialisés sous forme de poudres similaires aux laits lyophilisés, qui doivent être utilisés à une dilution donnée sous forme de biberon chez le nourrisson puis sous forme de préparation plus ou moins épaisse chez les enfants.

L'utilisation de ces substituts protéiques est indispensable car ils apportent les acides aminés assurant à l'enfant phénylcétonurique l'apport azoté obligatoire à sa croissance.

c.) Les produits hypoprotidiques

Ces produits permettent la diversification de l'alimentation de tous les patients soumis à des régimes hypoprotidiques. Ils se présentent sous forme d'aliments classiques dont le caractère hypoprotidique est défini par une teneur en protéines inférieure à 10 % de la teneur en protéines d'un aliment normal de même catégorie. Essentiellement riches en glucides et lipides, ces aliments participent à la couverture des besoins caloriques. Ils ne contiennent que peu ou pas de micronutriments. Leur prescription demande une connaissance parfaite de leur composition.

Présentés sous forme d'aliments courants tels que lait, fromages, pain, farines, biscuits, pâtes, riz, substitut d'œufs, chocolat, boissons et barres énergétiques,...ils permettent de normaliser les repas et contribuent à rompre la monotonie du régime. Ils concourent à améliorer la qualité et la variété de ce régime alimentaire très restrictif. (Peyne E. et al., 2006)

1.6.1.3 La durée du régime

En ce qui concerne la durée du régime, la question cruciale est de savoir s'il est possible d'arrêter le régime, et si oui, à quel moment? La décision concernant l'arrêt du régime ou son allègement doit être prise en considérant les performances et le comportement de chaque individu selon la situation scolaire, familiale ainsi que les données clinico-biologiques. (Ahring K. et al, 2009)

Il peut y avoir un relâchement du régime après l'âge de 10 ans. Le QI des enfants traités tôt (jusqu'à 10 ans) est stable jusqu'à l'âge adulte. En pratique, les recommandations sont de proposer aux enfants de plus de dix ans et à leurs parents un relâchement du régime, s'ils le souhaitent. (Feuillet F., 2006)

Quelle que soit la décision du patient ou de sa famille (arrêt ou maintien du régime), l'équipe médicale essaie dans la mesure du possible de poursuivre le suivi médical de tous les patients. Cette attitude est renforcée par le risque maintenant bien connu, pour les femmes phénylcétonuriques non traitées, de mettre au monde des enfants atteints d'embryopathies sévères. Or, il est très difficile, pour la jeune femme phénylcétonurique qui souhaite avoir un enfant, de reprendre un régime strict qu'elle a complètement abandonné au sortir de la petite enfance. (Peyne E et al, 2005)

1.6.1.4 Conclusion

La mise en place du régime et son bon déroulement nécessite une prise en charge pluridisciplinaire entre les médecins référents de la PCU, les diététiciens, les pédiatres et les psychologues autour du patient. Ce régime est à la fois complexe, invalidant et doit être extrêmement bien suivi dans l'intérêt des malades.

Au jour d'aujourd'hui, il reste l'unique moyen de contrôler les taux de Phe malgré la mise sur le marché du chlorhydrate de saproptérine et la publication de nouvelles études portant sur des traitements novateurs que nous allons étudier par la suite.

1.6.2 LES TRAITEMENTS MEDICAMENTEUX

Ces dernières années ont été florissantes pour la recherche dans le cadre des HPA et, plus particulièrement de la PCU. Un nouveau médicament a ainsi vu le jour ainsi qu'une nouvelle thérapie utilisant les acides aminés neutres (AAN). De nouveaux traitements sont également à l'étude et laisse présager de l'espoir dans le combat contre cette pathologie.

1.6.2.1 Le dichlorhydrate de saproptérine

Depuis 2009, le dichlorhydrate de saproptérine, commercialisé sous le nom de Kuvan® en Europe et sous le nom de Biopten® aux Etats-Unis, a obtenu en France une autorisation de mise sur le marché pour la PCU et l'HPA ayant pour origine un déficit en BH4. Ce médicament orphelin est un formidable espoir pour les patients mais il ne se substitue pas au régime, il le complète. La population cible de Kuvan® serait de l'ordre de 230 patients. (HAS, 2010)

Nous allons étudier ce médicament en nous basant sur les études réalisées par la commission de transparence de la HAS.

a.) Forme

Le Kuvan® se présente sous la forme de comprimés pour solution buvable dosés à 100 mg de dichlorhydrate de saproptérine.

Rappelons que la saproptérine, ou tétrahydrobioptérine (BH4), est une molécule synthétisée par l'organisme. La tétrahydrobioptérine, est le cofacteur de

l'hydroxylase des acides aminés aromatiques dont fait partie la phénylalanine hydroxylase, enzyme permettant la transformation de la PHE en tyrosine.

Le dichlorhydrate de saproptérine est une formulation synthétique de la saproptérine pouvant se substituer à la molécule endogène.

Son nom chimique est le (6R)-2-amino-6-[(1R, 2S)-1,2-dihydroxypropyl]-5, 6, 7,8-tétrahydro-4(1H)-ptéridone, dichlorhydrate, sa formule est le $C_9H_{15}N_5O_3 \cdot 2HCl$, et son poids moléculaire est de 314,17 g/mol (Figure 7) (Merk Serono, 2009).

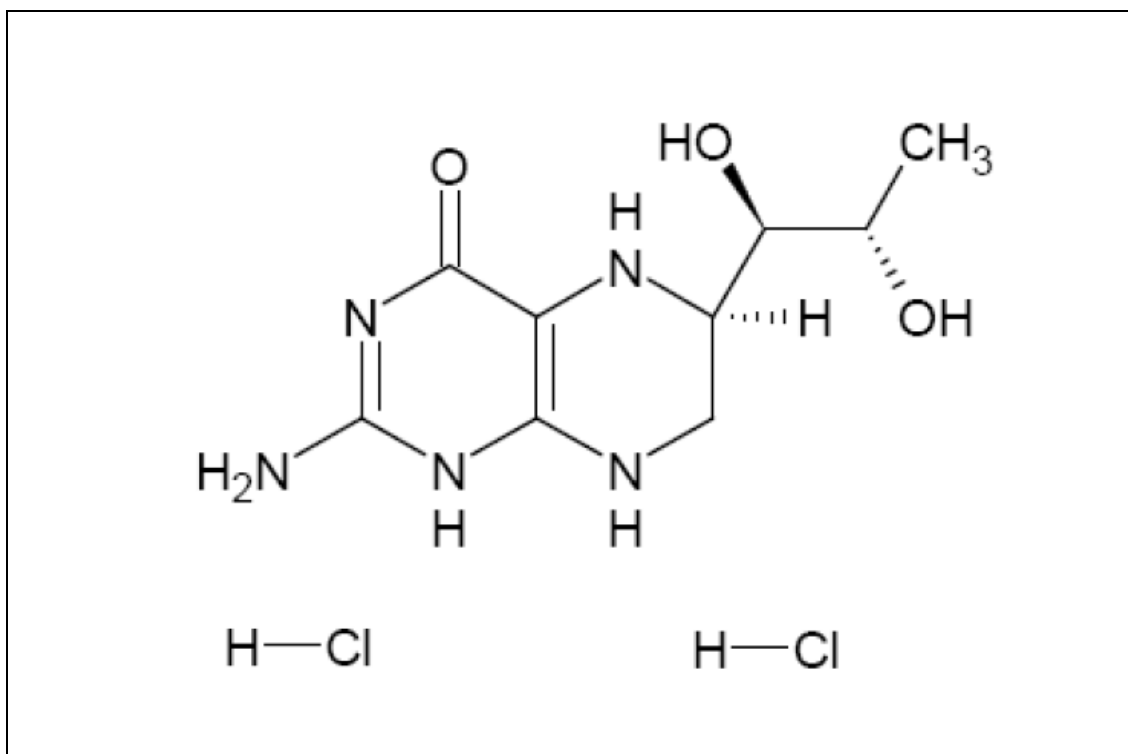


Figure 7 : **Structure moléculaire du Kuvan®** (Dichlorhydrate de saproptérine)

Il existe sous deux présentations :

- flacon de 30 comprimés
- flacon de 120 comprimés

Il est commercialisé par les laboratoires MERCK SERONO®. Il est classé dans la liste I et est soumis à une prescription hospitalière. C'est un médicament orphelin.

b.) Indication

Kuvan® est indiqué dans le traitement de l'HPA chez l'adulte et chez l'enfant âgé de plus de 4 ans atteints de PCU ou d'un déficit en BH4 qui ont été identifiés comme répondeurs à ce type de traitement.

c.) Mécanisme d'action

Kuvan® favorise le processus d'hydroxylation de la Phe en tyrosine par la phénylalanine hydroxylase.

Bien que le mécanisme précis de ce processus ne soit pas encore totalement élucidé, des hypothèses suggèrent que l'augmentation de la concentration disponible en BH4 pourrait avoir les effets suivants chez les patients atteints de PCU répondeurs à la BH4 :

- Augmenter l'expression protéique de la PAH par interaction avec le gène de la PAH.
- Contribuer au bon repliement de la PAH, la BH4 pouvant agir comme une protéine chaperonne.
- Augmenter la probabilité de fixation de la BH4 à un site anormal sur la PAH

Il est une source de BH4, permettant ainsi le fonctionnement de la PAH et la réduction de l'HPA chez les patients ayant un déficit en BH4. Il peut ainsi corriger partiellement les déficits en certains neurotransmetteurs, dont la synthèse dépend aussi de la présence de BH4. (Merk Serono, 2009)

d.) Posologie

Il doit être administré lors d'un repas, en une seule prise quotidienne, à la même heure chaque jour, de préférence le matin.

La dose quotidienne calculée à partir du poids corporel doit être arrondie au multiple de 100 le plus proche. Par exemple, une dose calculée de 401 à 450 mg doit être arrondie à 400 mg ce qui correspond à 4 comprimés. Une dose calculée de 451 à 499 mg doit être arrondie à 500 mg, ce qui correspond à 5 comprimés.

❖ PCU

La dose initiale chez l'adulte et l'enfant atteints de PCU est de 10 mg/kg poids corporel, une fois par jour. La dose est ajustée, habituellement entre 5 et 20 mg/kg/jour, pour atteindre et maintenir les taux sanguins requis de phénylalanine tels que définis par le médecin. (Tableau III)

❖ Déficit en BH4

La dose initiale chez l'adulte et l'enfant atteints de déficit en BH4 est de 2 à 5 mg/kg de poids corporel, une fois par jour. Les doses peuvent être ajustées jusqu'à 20 mg/kg/jour.

Il peut être nécessaire de diviser la dose quotidienne totale en 2 ou 3 prises, réparties sur la journée, afin d'optimiser l'effet thérapeutique.

Le traitement peut diminuer les taux sanguins de Phe au-delà du niveau thérapeutique souhaité. Afin d'atteindre et de maintenir les taux sanguins de Phe dans la fourchette thérapeutique souhaitée, un ajustement de la dose de saproptérine ou une modification des apports alimentaires en phénylalanine pourra être nécessaire. (EMEA, 2010)

Tableau III : Calcul de la dose de Kuvan® par rapport au poids

Poids corporel (kg)	Nombre de comprimés (pour une posologie de 10 mg/kg)	Nombre de comprimés (pour une posologie de 20 mg/kg)
10	1	2
20	2	4
30	3	6
40	4	8
50	5	10

e.) Détermination de la réponse

La réponse au traitement est déterminée par la diminution du taux sanguin de Phe. La phénylalaninémie doit être contrôlée avant le début du traitement et après une semaine de traitement à la dose initiale recommandée. Si une réduction insatisfaisante des taux sanguins de Phe est observée, la dose peut alors être augmentée hebdomadairement jusqu'à un maximum de 20 mg/kg/jour en poursuivant la surveillance hebdomadaire des taux sanguins de Phe sur une période d'un mois.

Les apports alimentaires en Phe doivent être maintenus à un niveau constant pendant cette période. Une réponse satisfaisante est définie par une réduction d'au moins 30% des taux sanguins de Phe. Les patients qui ne parviennent pas à atteindre ce niveau de réponse au cours de la période test d'un mois doivent être considérés comme non-répondeurs et ne doivent pas recevoir de traitement.

Lorsque la réponse a été établie, la posologie peut être ajustée sur l'intervalle de 5 à 20 mg/kg/jour selon la réponse au traitement. (HAS, 2009)

f.) Contre indication

Le Kuvan® est contre-indiqué chez les personnes présentant une hypersensibilité à la substance active ou à l'un des excipients.

g.) Interactions médicamenteuses

Aucune étude d'interactions n'a été réalisée. Bien que l'administration concomitante d'inhibiteurs de la dihydrofolate réductase (comme le méthotrexate ou le triméthoprime) n'ait pas été étudiée, de tels médicaments peuvent interférer avec le métabolisme de la BH4.

La BH4 est un cofacteur de l'oxyde nitrique synthétase. La prudence est recommandée en cas d'utilisation concomitante de Kuvan® et de tous les agents induisant une vasodilatation, y compris ceux administrés par voie locale, car cela peut affecter le métabolisme ou l'action de l'oxyde nitrique (NO), notamment les donneurs de NO classiques (comme le trinitrate de glycéryle, le dinitrate d'isosorbide et la molsidomine), les inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5 (PDE-5) et le minoxidil.

Il convient d'être prudent en cas de prescription chez des patients recevant un traitement par lévodopa car une augmentation de l'excitabilité et de l'irritabilité est possible. (HAS, 2009)

h.) Grossesse et Allaitement

Aucune donnée clinique n'étant disponible concernant l'exposition à Kuvan® au cours de la grossesse, son utilisation ne sera envisagée que si le traitement par le régime alimentaire strict ne suffit pas à réduire les taux sanguins de phénylalanine. Dans ce cas, les taux sanguins maternels en phénylalanine devront être strictement contrôlés avant et pendant la grossesse, sinon cela pourrait être néfaste pour la mère et le fœtus.

Kuvan® ne devra pas être utilisé au cours de l'allaitement. (Chocarne P. et al. 2010)

i.) Effets indésirables

Environ 35 % des 579 patients qui ont reçu un traitement par dichlorhydrate de saproptérine (5 à 20 mg/kg/jour) dans le cadre des essais cliniques ont présenté des réactions indésirables.

Les effets le plus fréquemment rapportés sont des maux de tête et une rhinorrhée.

Les fréquences sont définies de la façon suivante : très fréquent ($\geq 1/10$) et fréquent ($\geq 1/100$ et $\leq 1/10$). (Tableau IV) (HAS, 2009)

Tableau IV: les effets indésirables du Kuvan® (HAS, 2009)

Classe système/organe	Très fréquent	Fréquent
Affections du système nerveux	Maux de tête	
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	Rhinorrhée	Douleur pharyngolaryngée Congestion nasale Toux
Affections gastro-intestinales		Diarrhée Vomissement Douleur abdominale
Troubles du métabolisme et de la nutrition		Hypophénylalaninémie

1.6.2.2 Les acides aminés neutres à longues chaînes

Les acides aminés neutres à longues chaînes (LNAA pour *large neutral amino acid*) comportent sept acides aminés : tyrosine, leucine, isoleucine, valine,

tryptophane, méthionine et histidine. Ces acides aminés possèdent un transporteur commun avec la Phe, le LAT-1.

Ils sont donc en compétition avec cette dernière pour le passage intestinal et au niveau de la barrière hémato-encéphalique. L'administration de LNAA permet ainsi de diminuer la quantité de Phe absorbée au niveau digestif et également d'inhiber le transport intracérébral de PHE. Les LNAA peuvent se révéler surtout utiles pour les patients plus âgés dont les taux sanguins de Phe ne peuvent être abaissés d'aucune autre façon.

PARTIE PRATIQUE :
RECHERCHE DE LA MUTATION p.G352fsDELG
PAR RFLP

La *p.G352fsdelG* est une des mutations du gène de la PAH située sur l'exon 10, rencontrée au sein de la population méditerranéenne, et plus particulièrement au Maroc où elle a été rapportée comme étant la mutation la plus fréquente. (Dahri *et al.* 2010). Cette mutation consiste en un changement du cadre normal de lecture (erreur de trame) causé par la délétion d'une base, la Guanine au niveau du nucléotide 352.

Le but de notre travail est de mettre au point une technique de recherche de la mutation *p.G352fsdelG* par RFLP et son application chez des patients atteints de PCU, leur familles quand le prélèvement est disponible et chez un échantillon de la population Marocaine normale.

2.1 PATIENTS ET METHODES

2.1.1 PATIENTS

La population de l'étude comporte :

- 80 étudiants de la Faculté de Médecine et Pharmacie et exclusivement ceux qui sont en section Pharmacie
- 16 Patients Phénylcétonuriques, diagnostiqués par le Laboratoire de Biochimie du CHIS de Rabat
- 5 Membres de famille d'enfants phénylcétonuriques

Le consentement a été obtenu de la famille de chaque patient et une fiche de consentement éclairée a été remplie par chaque étudiant (Figure 10). Elle renfermait des renseignements tels que : le Nom, le lieu de naissance et la région d'origine.

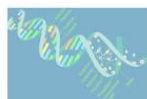
Critères d'inclusion dans l'étude :

- L'étudiant doit être inscrit à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat en section Pharmacie
- Le patient doit être Phénylcétonurique
- Les Membres de la fratrie d'un Phénylcétonurique

Critères d'exclusion dans l'étude

- Patient ou étudiant n'ayant pas la nationalité Marocaine

Faculté de Médecine et
de Pharmacie de Rabat



كلية الطب والصيدلة
الرباط

Laboratoire de Chimie, Biochimie, Biologie et Biologie Moléculaire

Chef de service

Pr. Layachi CHABRAOUI

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT ECLAIRE

Equipe enseignante

Professeurs

Pr. Lhoucin BALOUCH

Pr. Youssef BAMOU

Pr. Sanae BOUHSAIN

Pr. Abdellah DAMI

Pr. Ouafae KABBAJ

Pr. Zohra. OUZZIF

Pr. Ahlam RIDHA

Pr. Saïda TELLAL

Je soussigné (e) Mr(Mlle)
Né(e) le à
Originaire de

Par la présente, donne mon consentement à subir un prélèvement sanguin. La nature des études génétiques susceptibles d'être pratiquées sur ce prélèvement m'a été bien expliquée par le Professeur Layachi CHABRAOUI. J'accepte que ce prélèvement soit conservé au laboratoire selon les exigences légales et que les résultats des analyses et toutes les informations me concernant soient utilisés en respectant le secret médical.

Fait à

Le

Signature de l'étudiant

Professeurs Assistants

Dr. Laila BENCHEKROUN

Dr. Mounya BOUABDELLAH

Dr. Samira EL MACHTANI

Dr. Jamila ELJASTIMI

Dr. Chadia OUZZANI

Je confirme avoir expliqué la nature des études génétiques qui seront réalisées sur le prélèvement sanguin de la personne pré-signataire de ce formulaire de consentement général.

Dr

Assistante

Dr. Laila BENNAGHMOUCH

Date

Signature

Figure 8 : Formulaire de consentement éclairé

2.1.2 METHODES

Nous avons réalisé cette étude en deux temps :

- La première étape consistait à mettre en place une technique de diagnostic de la PCU en recherchant particulièrement la mutation *p.G325fsdelG* dans la population générale (Population phénotypiquement saine).

Pour cela nous avons choisi comme population d'étude, des étudiants en pharmacie.

- La deuxième étape consistait à confirmer l'efficacité de la technique mise en place, en recherchant la mutation *p.G352fsdelG* chez des patients phénylcétonuriques, ainsi que chez quelques membres de leurs familles disponibles selon le consentement des parents.

Nous avons procédé comme suit :

- Collecte de sang
- Isolement des leucocytes
- Extraction de l'ADN
- Dosage de l'ADN
- Amplification du gène cible (PCR)
- Digestion enzymatique (RFLP)
- Electrophorèse sur gel d'Agarose
- Révélation sur caméra UV

a.) Collecte de sang

Des échantillons de sang (5ml) ont été recueillis auprès des étudiants, des patients et de leurs parents sur tube EDTA.

b.) Isolement des leucocytes

- Principe :

Le sang total est dilué dans une solution de chlorure d'ammonium afin d'effectuer une hémolyse. Les cellules nucléées (leucocytes) sont recueillies et lavées après centrifugation.

- Protocole :

- Transférer le sang dans un tube **Falcon**,
- Ajouter 35 ml de Chlorure d'ammonium (0,16M) dans le tube pour avoir un volume total de 40ml.

Le chlorure d'ammonium entrainera la lyse des globules rouges.

- 10 à 15 minutes après l'ajout du chlorure d'ammonium (Temps nécessaire pour que l'hémolyse soit complète), centrifuger à 5.000 trs/min pendant 5min à température ambiante,
- Eliminer le surnageant.

Le reste du culot rougeâtre sera lavé avec de l'eau physiologique jusqu'à obtention d'un culot blanchâtre ou jaunâtre,

- Remettre en suspension le culot leucocytaire en ajoutant 1,5ml d'eau Physiologique,

- Transférer la suspension des leucocytes dans un tube **Eppendorf**, puis centrifuger à 9.000 trs/ min pendant 9 minutes.
- Eliminer le surnageant et conserver le culot à -20°C.

c.) Extraction de l'ADN

- Principe

L'extraction de l'ADN se fait premièrement par une étape de lyse de la membrane des leucocytes, suivie d'une étape de dénaturation ou d'inactivation de la structure tridimensionnelle des protéines et leur digestion par la protéinase K. Enfin, une étape de purification ou de lavage à l'éthanol s'avérera indispensable.

- Protocole :

- Reconstituer le culot leucocytaire avec 50 µl d'eau physiologique,
- Ajouter 500µl de **Tampon protéinase K**, puis vortexer,
- Ajouter 50 µl de **protéinase K (1g/ml)**.

L'incubation se fait dans un bain marie thermostaté soit à 37°C pour une incubation de 24h, soit à 56°C pour une incubation d'une heure.

- Ajouter 50 µl d'acétate de sodium (4g/l) et bien vortexer par la suite
- Ajouter 650 µl d'isopropanol absolu

L'ajout de l'isopropanol fera apparaitre une pelote d'ADN

2 fois

- Récupérer la pelote à l'aide d'une pipette pasteur et la placer au fond d'un tube eppendorf
- Ajouter 500 µl d'éthanol afin de purifier l'ADN, puis vortexer
- Centrifuger à environ 9.000 trs/min pendant 2 à 3 minutes
- Eliminer délicatement le surnageant
- Laisser évaporer l'éthanol
- Ajouter 200 µl d'eau ultra pure afin de mettre en solution l'ADN.

La conservation de l'ADN se fera à :

- +4°C pour un stockage à court terme,
- - 20°C pour un stockage à long terme
- - 80°C pour une conservation au long court

d.) Dosage de l'ADN par spectrophotométrie

Cette étape est indispensable après l'extraction de l'ADN sur du matériel biologique.

Le dosage s'effectue par spectrophotométrie dans l'ultra-violet à 260 nm. Il est indispensable de mesurer également l'absorption à 280 nm. Cette dernière longueur d'onde permet d'estimer la contamination éventuelle de l'extrait par des protéines. L'absorption se définit par l'unité de densité optique mesurée à 260 nm. Une unité de densité optique à 260 nm correspond à l'absorption d'une solution d'ADN double brin à la concentration de 50 µg/ml ou à l'absorption d'une solution d'ADN simple brin à la concentration de 33 µg/ml ou encore à de l'ARN à 40 µg/ml.

e.) Amplification de gène cible (PCR)

- Principe

La PCR est l'abréviation de l'expression anglaise *Polymerase Chain Reaction* (le terme français équivalent est Amplification en chaîne par polymérisation). C'est une technique de répllication in vitro. Elle permet d'obtenir, à partir d'un échantillon complexe et peu abondant, d'importantes quantités d'un fragment d'ADN spécifique et de longueur définie.

Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : une **dénaturation** de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, une **hybridation** des amorces aux extrémités de la séquence recherchée en abaissant la température, puis une **élongation** grâce à la *Taq polymérase*. Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible. (Figure 9)

- Protocole

La composition du Mix pour un échantillon de 50 µl est le suivant :

- Tampon Taq (10X) : 5 µl
- MgCl₂ 25 mM: 4 µl
- Le Primer (PAH 10F) : 1 µl
- Le Primer (PAH 10R) : 1 µl
- d-NTP : 1 µl
- Eau (ultra pure) : 36,5 µl
- Tap Polymérase : 0,5 µl
- Echantillon d'ADN : 1 µl

Les Mix ainsi préparés, sont placés dans un thermocycleur (***HVD Life sciences Qantarus®***) pour démarrer l'amplification du gène cible. Ainsi, le paramétrage des différentes étapes du cycle de la PCR au sein du thermocycleur s'avère indispensable :

- Préchauffage de la plaque du thermocycleur à 112°C
- La **Dénaturation** de l'ADN double brin se fera à 96°C
- L'**hybridation** variera en fonction de la température optimale d'hybridation des amorces (Tm : Melting temperature) . Dans notre cas nous avons utilisé 58°C
- L'**élongation** ou la polymérisation en présence du d-NTP se fera à 72°C

Ses trois dernières étapes seront répétées 35 fois c'est-à-dire 35 cycles seront réalisés.

Note : Les Primers utilisés sont :

F (forward): 5'catccagtcagggtgacaca 3'

R (reverse): 5'ggtttctgtaccaccact3'

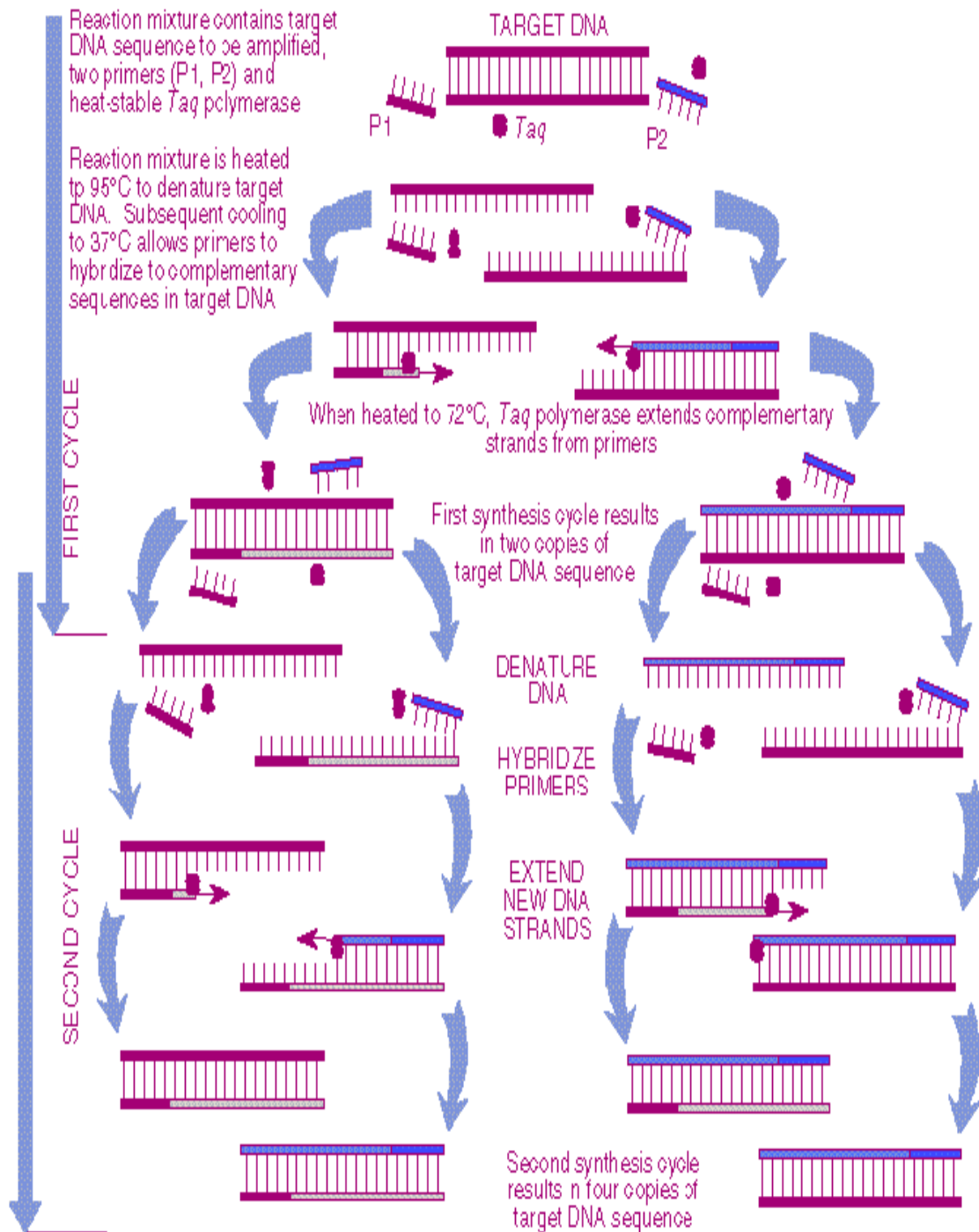


Figure 9: Principe schématique de la PCR (DNA Science, see)

f.) Digestion enzymatique (RFLP)

- Principe

La RFLP est la l'abréviation de l'expression anglaise *Restriction Fragment Length Polymorphism* (le terme français équivalent est Polymorphisme de longueur des fragments de restriction). Elle repose sur la digestion d'un ADN cible par une ou plusieurs enzymes de restriction spécifiques des sites de restriction portés par l'ADN. Certaines mutations modifient la séquence du site de restriction et empêchent l'action de l'enzyme. Les modifications par mutation peuvent également faire apparaître un nouveau site de restriction permettant ainsi l'action d'une enzyme de restriction. Les non-coupures de l'ADN ou au contraire les nouvelles coupures sont détectées par une variation du nombre et de la longueur des fragments d'ADN (fragments de restriction) obtenus après digestion enzymatique (Figure 10).

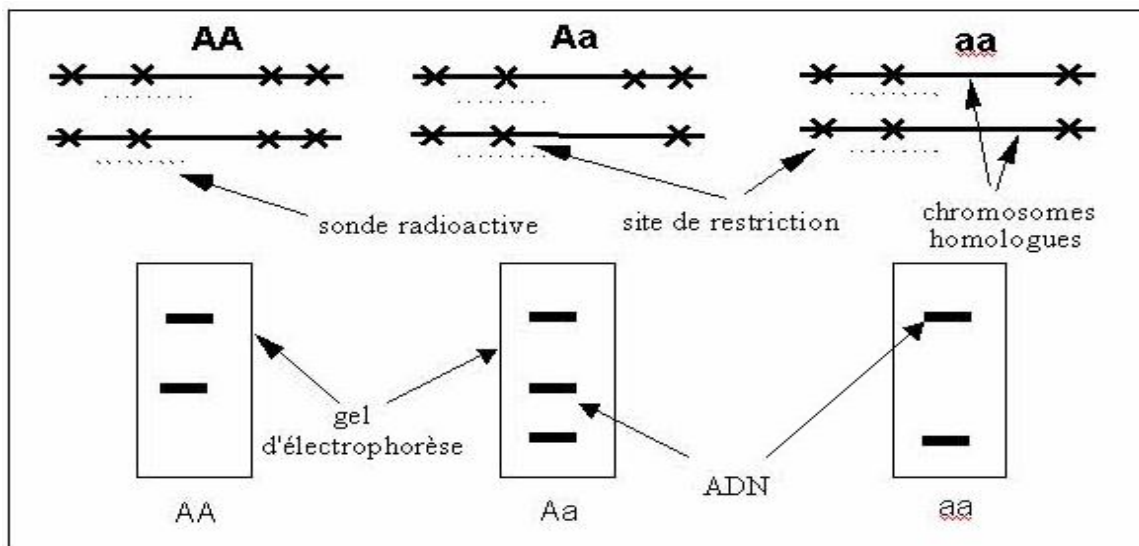


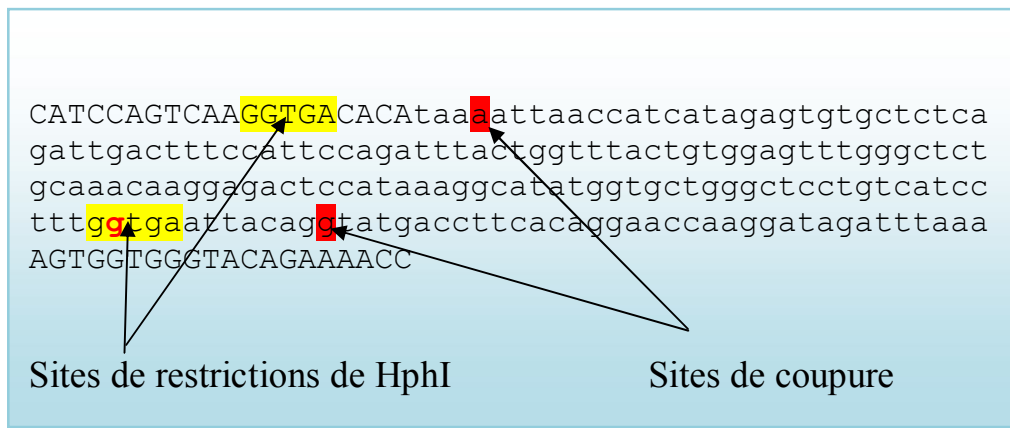
Figure 10: Principe de la Technique RFLP

- Protocole

La recherche de la mutation *p.G352fsdelG* par RFLP nécessite l'utilisation d'une enzyme de restriction bien spécifique : HphI.

Cette dernière possède deux sites de restriction sur le fragment amplifié au niveau de l'exon 10 du gène PAH sur le chromosome 12 (Figure 11)

Le fragment que nous avons amplifié est de 220 pb.



Les sites de restriction reconnus par l'enzyme HphI sont **GGTGA CACA TAAA** et **G GTGA ATTACA GG**. L'action de l'enzyme c'est-à-dire la coupure, se fait 8 paires de base après le site de restriction (cf. la figure ci-dessus).

- En l'absence de mutation, la coupure engendre 3 fragments :
142 pb + 54pb + 24 pb,

Length	5' Enzyme	5' Base	3' Enzyme	3' Base	Sequence
142	HphI	25	HphI	166	ATTAACCATC ATAGAGTGTG CTCTCAGATT GACTTTCATT CCAGATTTA CTGGTTTACT GTGGAGTTTG GGCTCTGCAA ACAAGGAGA C TCCATAAAGG CATATGGTGC TGGGCTCCTG TCATCCTTTG GTGAATTACA GG
54	HphI	167	none	220	TATGACCTTC ACAGGAACCA AGGATAGATT TAAAAGTGGT GGGTACAGAA AACC
24	none	1	HphI	24	CATCCAGTCA AGGTGACACA TAAA

En présence de la mutation *p.G352fsdelG*, c'est-à-dire délétion de la Guanine au niveau du 352ème codon du gène ou encore délétion de la 1055ème base du gène. La délétion se situe au niveau du deuxième site de restriction de l'enzyme. Cette dernière ne reconnaîtra qu'un seul site de coupure (Figure 11).

Cette coupure engendre 2 fragments : 195 pb + 25 pb

Length	5' Enzyme	5' Base	3' Enzyme	3' Base	Sequence
195	HphI	25	none	219	ATTAACCATC ATAGAGTGTG CTCTCAGATT GACTTTCCAT TCCAGATTTA CTGGTTTACT GTGGAGTTTG GGCTCTGCAA ACAAGGAGAC TCCATAAAGG CATATGGTGC TGGGCTCCTG TCATCCTTTG TGAATTACAG GTATGACCTT CACAGGAACC AAGGATAGAT TTAAAAGTGG TGGGTACAGA AAACC
24	none	1	HphI	24	CATCCAGTCA AGGTGACACA TAAA

g.) Electrophorèse sur Gel d'Agarose

L'électrophorèse est une technique séparative. Elle est utilisée le plus souvent dans un but analytique mais également parfois pour purifier des molécules solubles.

- Principe

Elle consiste à soumettre un mélange de molécules à un champ électrique ce qui entraine la migration des molécules chargées. En fonction de différents paramètres (charge, masse, forme, nature du support, conditions physico-chimiques) la vitesse de migration va être variable, ce qui permet la séparation des différentes molécules. (Gilles Simon, 2009)

La technique de l'électrophorèse en gel d'agarose appliquée à l'ADN est basée

sur la séparation des fragments d'acides nucléiques chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique.

- Protocole

Nous avons utilisé l'électrophorèse sur gel d'agarose pour identifier et contrôler les produits d'amplification par PCR et aussi pour vérifier l'action de l'enzyme de restriction HphI sur ces produits.

Cette séparation s'effectue dans un tampon TBE à travers la matrice du gel d'agarose additionné de **Bromure d'éthidium** (BET) comme indicateur. Les fragments d'ADN soumis à l'électrophorèse sont chargés négativement et vont migrer vers l'anode. Les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures.

Le mini gel d'agarose à 2% préparé dans le tampon TB 1X permet de traiter 7 ou 11 échantillons selon le peigne utilisé.

Les conditions d'électrophorèse que nous avons choisies sont :

- Tension : le voltage utilisé était de 100 volts
- Temps de migration : une heure

Dans ces conditions le courant généré est de 35 mA

A la fin de la migration le gel est retiré de la cuve et placé dans la chambre de visualisation sous lumière UV. L'image est capturée à l'aide d'une caméra et traité par ordinateur (Figure12).

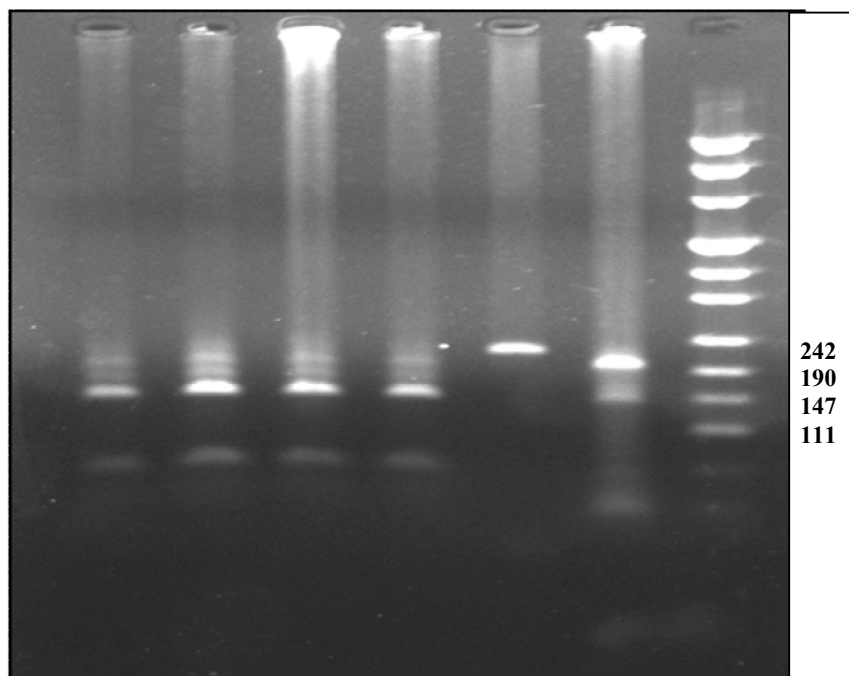


Figure 12: Photo d'une migration électrophorétique sur gel d'agarose montrant 6 échantillons et un indicateur de poids moléculaire

Note :

- Le Mini gel d'agarose à 2% avait une dimension de (8 x 5,5cm) pour le traitement de 7 échantillons et une dimension de (10,5 x 8 cm) pour le traitement de 11 échantillons. Avec respectivement un volume de 20 ml et 30 ml de gel d'agarose.
- Le BET étant cancérigène, il est impératif d'utiliser des gants lors de la préparation du gel et de son utilisation.

2.2 RESULTATS

2.2.1 CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE

a.) Caractéristiques anthropométriques

- Répartition de la population en fonction du sexe
 - Sur un effectif de 80 étudiants, les femmes représentaient la majorité à 58,75% (47/80) alors que les hommes ne représentaient que 41,25% (33/80). Le sexe ratio M/F était de 1,42.

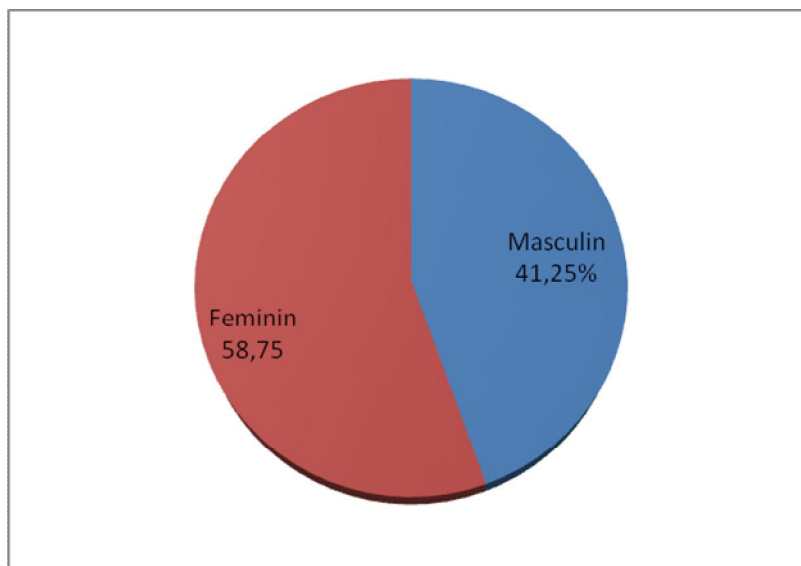


Figure 13: Répartition de la population estudiantine selon le sexe

- Sur un effectif de 16 patients, nous avons eu 7 filles et 9 garçons
- Sur les 5 membres de familles, nous avons eu 2 femmes (mères), 3 hommes (2 pères et un jeune garçon)

- Répartition de la population selon l'origine géographique

Notre étude a portée sur :

- les étudiants de la section pharmacie de Rabat
- des patients phénylcétonuriques ainsi que quelques membres de leur famille.

Les origines géographiques des étudiants sont représentées dans la figure ci-dessous :

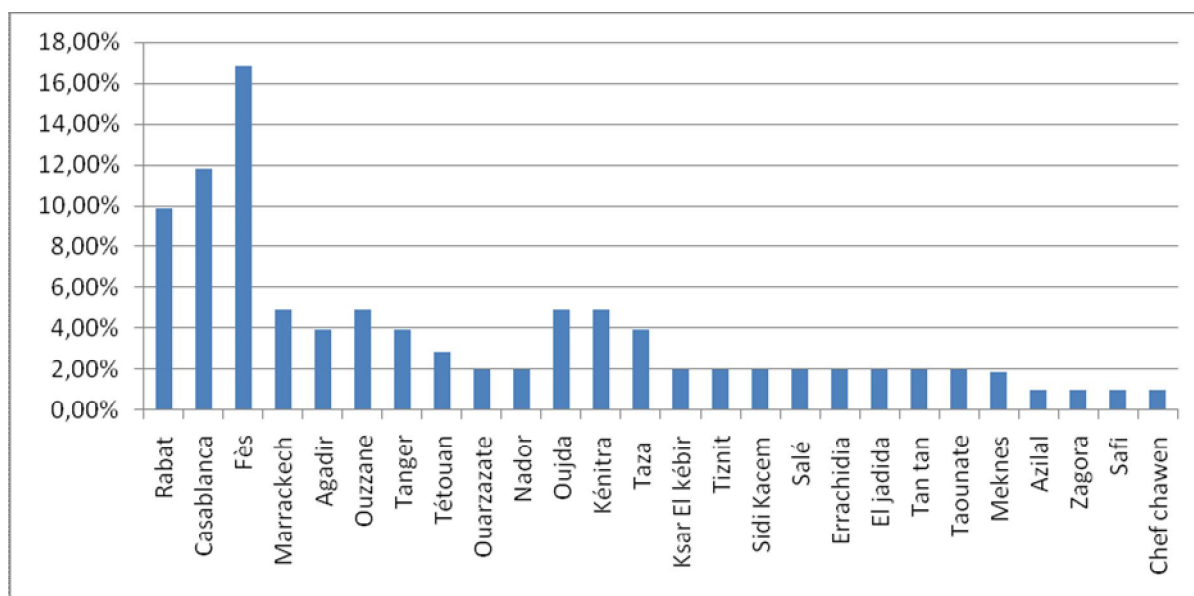


Figure 14: Répartition des étudiants selon l'origine géographique.

Les patients PCU ainsi que les membres de leur famille provenaient de Rabat et des régions avoisinantes.

- Répartition de la population d'étude selon la tranche d'âge
 - La tranche d'âge estudiantine : 20-25 ans
 - La tranche d'âge des patients PCU : 1-7ans

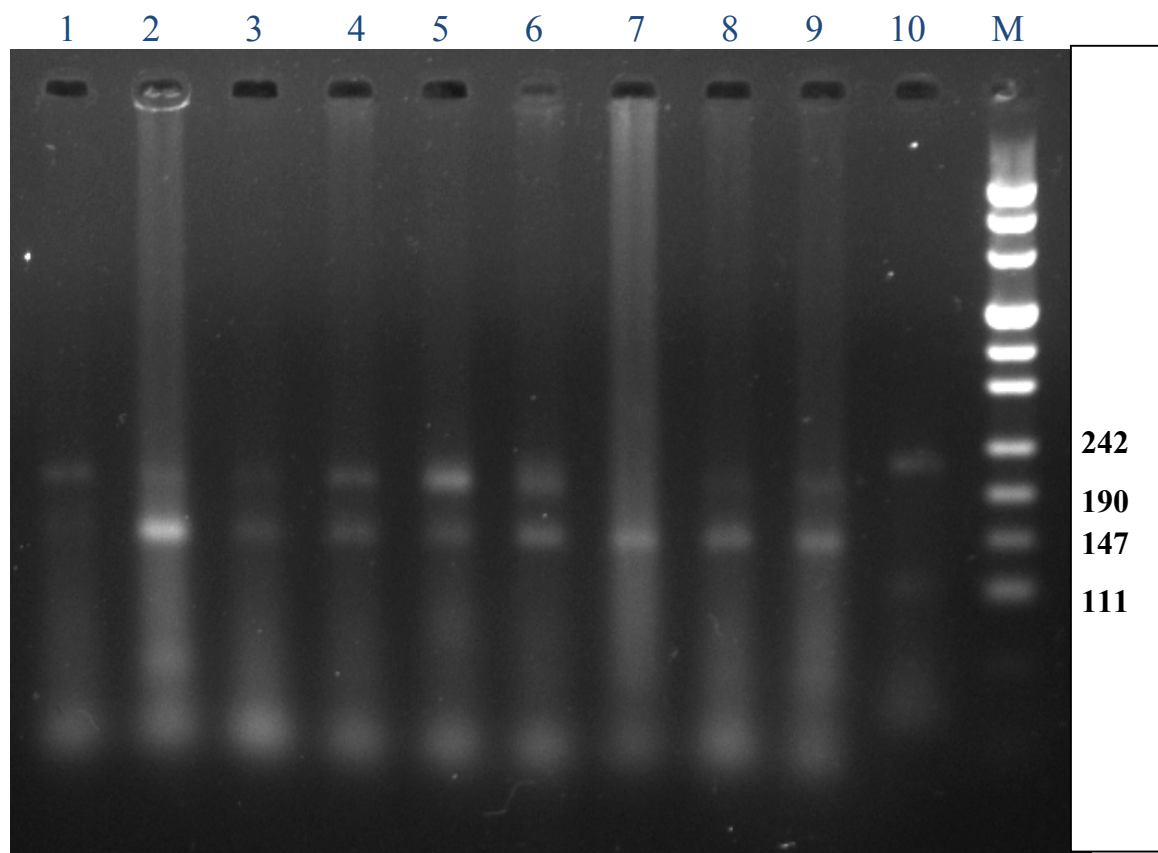
2.2.2 RESULTATS DE L'ETUDE MOLECULAIRE DE LA PCU : RECHERCHE DE LA MUTATION p.G352FSDELG PAR RFLP

Notre étude a porté sur 101 individus : 80 étudiants en faculté de pharmacie, 16 patients atteints de PCU et 5 membres de la famille des patients phénylcétonuriques, tous provenant de différentes régions du Maroc (Figure 15).

Les résultats se présentent comme suit:

- Sur les 80 étudiants en Pharmacie que nous avons étudiés, aucun d'entre eux ne porte la mutation recherchée.
- Sur les 16 patients étudiés,
 - 5 sont homozygotes (p.G352fsdelG/ p.G352fsdelG)
 - 6 sont hétérozygotes (p.G352fsdelG/ ?)
 - 5 présentent une autre mutation non déterminée (?/ ?)
- Tous les 5 membres de familles des patients sont hétérozygotes (p.G352fsdelG/ Allèle non muté).

Des exemples de profils observés sont illustrés par la Figure 15.



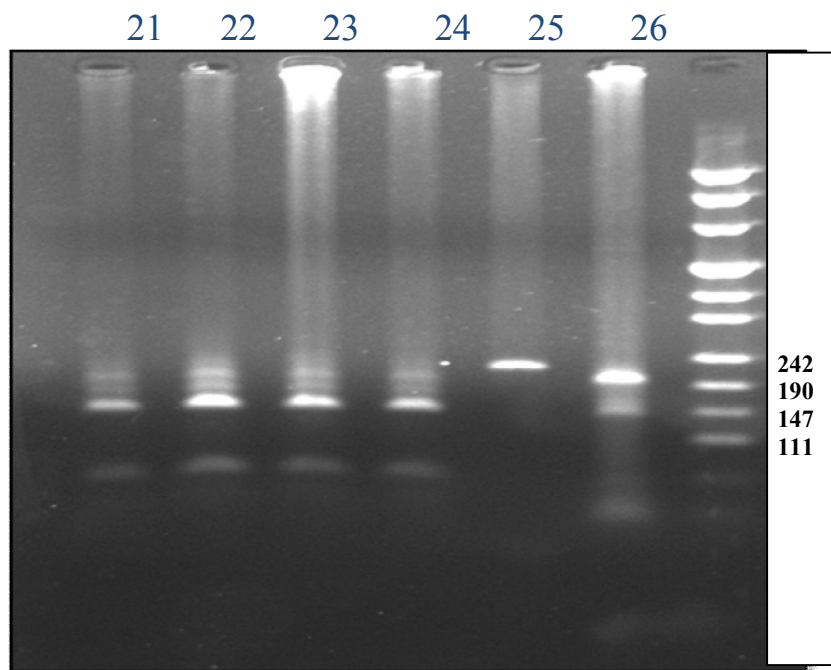
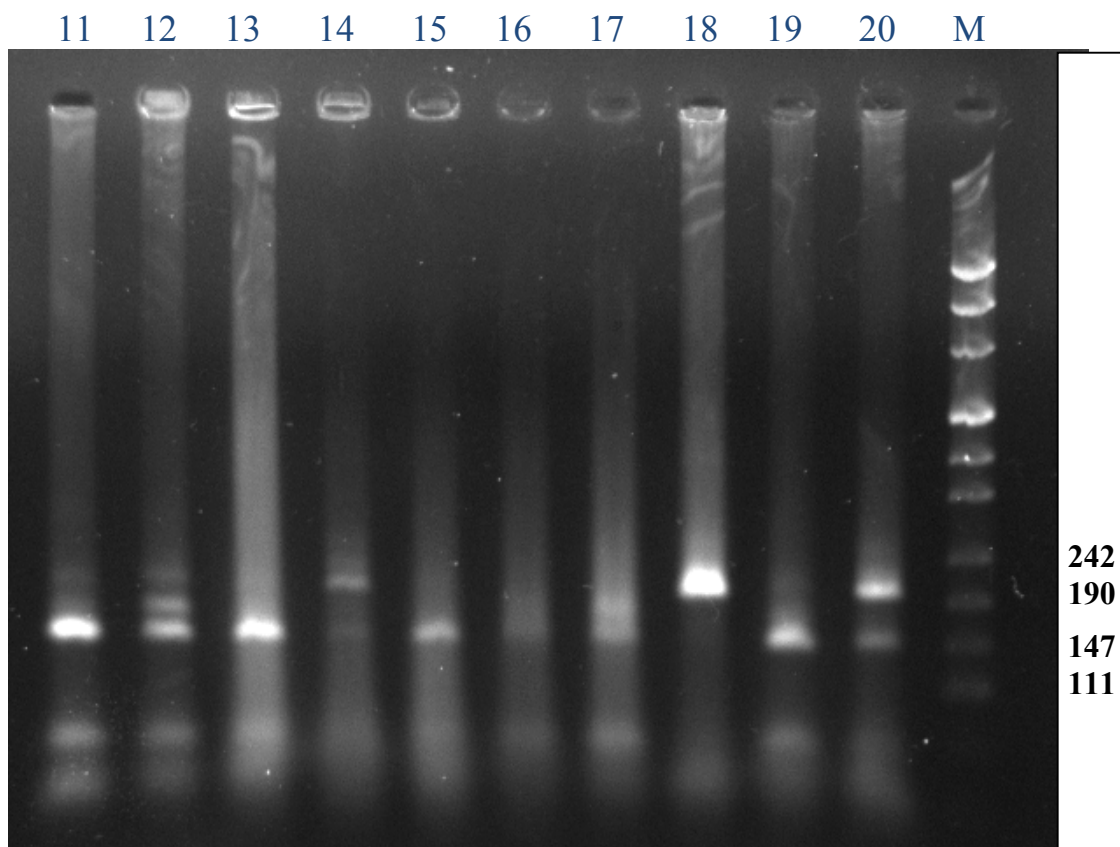


Figure 15 : Profils électrophorétiques après digestion enzymatique par l'HphI

Interprétation :

- Les colonnes 1 à 26 correspondent à 26 parmi l'ensemble des échantillons étudiés. La colonne **M** correspond aux marqueurs de poids moléculaire exprimés en pb (paire de bases).
- La bande à 220 pb correspond au fragment amplifié dans l'exon 10 : c'est le cas de la bande observée dans les échantillons **10** et **25**
- La bande à 195 pb correspond aux sujets PCU qui portent la mutation p.G352fsdelG : c'est le cas des échantillons **1, 14, 18, 20** et **26**
- La bande à 145 pb correspond aux non PCU ou aux sujets PCU ne portant pas la mutation p.G352fsdelG : c'est le cas des échantillons **7, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 22, 23** et **24**
- La présence des bandes 195/145 pb correspond aux sujets hétérozygotes : c'est le cas des échantillons **2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 12**

2.3 DISCUSSION

2.3.1 ASPECTS TECHNIQUES

La mise au point de la technique a nécessité plusieurs ajustements en vue d'une optimisation des conditions de PCR permettant d'avoir un bon rendement et une bonne spécificité. Les ajustements avaient porté sur :

- La concentration optimale des primers :

Les deux primers 10F et 10R que nous avons utilisés sont formés de 20 bases chacun. Nous avons préparé une dilution permettant de travailler avec une concentration de 100 ng/ul, mais dans ces conditions la quantité d'ADN amplifiée est faible. Nous avons ensuite doublé la quantité de primers (200 ng/ul), ce qui a amélioré le rendement. Il faut noter que les concentrations élevées en primers peuvent faire apparaître des produits d'amplifications non spécifiques (Czerny T. 1996).

- La concentration optimale du Tampon Taq :

Le tampon Tq 10X fourni par le fabricant doit être dilué au 1/10^{ème}. C'est pourquoi nous avons utilisé 5 ul de tampon pour un volume total de PCR de 50µl.

- Le volume de chlorure de magnésium à utiliser :

La concentration de Chlorure de Magnésium (MgCl₂) est une donnée capitale qui doit être optimisée. Nous avons réalisé des PCR avec une gamme de concentrations de MgCl₂ en utilisant des prises d'essai de 3µl, 4 µl et 5 µl de MgCl₂ à 25 mM. Les résultats ont été plus concluants avec 4 µl de MgCl₂, soit une concentration finale en MgCl₂ de 2 mM.

- La température optimale d'amplification :

Il est admis que la température d'hybridation (Annealing Temperature : Ta) choisie est en général inférieure de 5°C à la température de fusion (Melting Temperature : Tm).

Nous avons réalisé plusieurs séries de PCR avec des températures d'Annealing allant de 56 à 60°C, et la température de 58°C était la plus concluante.

- La dilution optimale de l'enzyme de restriction :

Pour être dans les conditions optimales de pH nous devons utiliser une dilution au dixième pour le tampon HphI. Pour la solution d'enzyme HphI nous avons utilisé une dilution au quarantième. Ces conditions sont obtenues en préparant le mélange suivant : 35 µl de produit PCR + 4 µl de tampon HphI + 1 µl d'HphI.

- Conditions physicochimiques de la digestion enzymatique :

D'emblé nous avons choisi 37°C comme température d'incubation.

Nous avons ensuite testé des durées d'incubation de 6 heures, 12 heures et 24 heures. C'est cette dernière durée que nous avons retenue car elle permet d'obtenir le meilleur rendement de digestion du fragment d'ADN étudié.

2.3.2 CHOIX DE LA POPULATION D'ETUDE

L'objectif initial de notre étude était d'estimer la prévalence de la mutation *p.G352fsdelG* dans la population Marocaine. La réalisation de cet objectif nécessite le recrutement d'une population d'étude représentative. L'approche que nous avons adoptée devait nous permettre d'avoir un mini-échantillon représentatif. Sachant que les étudiants de la section Pharmacie proviennent des

différentes régions du pays, nous avons pensé qu'en obtenant les prélèvements des étudiants d'une, de 2 ou de trois promotions d'étudiants serait un moyen efficace d'approcher la représentativité de la population Marocaine.

La principale difficulté que nous avons rencontrée est d'ordre logistique

Elle résidait dans la collecte des prélèvements sanguins au près des étudiants.

Nous avons commencé par les étudiants de première année de Pharmacie. Le taux de participation était relativement faible par rapport à l'effectif total des étudiants. Nous n'avons pu récolter que 80 prélèvements sanguins, alors que l'effectif est de 120 étudiants (Taux de participation de 67%).

La participation estudiantine était volontaire. Après avoir été informé sur la nature d'exams susceptibles d'être réalisés l'étudiant était libre de choisir de participer ou pas à l'étude. Les étudiants volontaires devaient avant tout remplir la fiche de consentement éclairé et répondre à un questionnaire classique (prise d'aspirine, anticoagulant, anémie...)

La raison récurrente des étudiants qui ne voulaient pas participer à l'étude était l'appréhension de se faire prélever « piqure ».

Le deuxième groupe d'étude est formé des patients PCU et leurs familles. Ce groupe devait nous permettre d'une part de vérifier la validité de la technique mise au point et d'autre part de confirmer la fréquence de la mutation *p.G352fsdelG* chez les malades Marocains.

2.3.3. APPORT DU TRAVAIL AU NIVEAU MAROCAIN

2.3.3.1 Caractéristique de la population d'étude

Comme nous l'avions supposé les étudiants qui forment notre groupe d'étude proviennent des différentes régions du Maroc. En effet, la faculté de Pharmacie de la ville de Rabat recrute les étudiants par concours ouvert aux étudiants ayant effectué deux années d'étude dans les facultés des sciences de toutes les villes Marocaines. La quasi-totalité des régions du royaume furent représentée avec une prédominance des étudiants provenant des villes de Fès, Casablanca et Rabat qui sont des villes où le nombre d'habitants est également élevé par rapport à d'autres villes du pays. On pourrait donc considérer que le groupe d'étudiants que nous avons prélevé est assez représentatif de la population Marocaine sans toutefois prétendre d'être à l'abri de biais de recrutement.

Le groupe de malades PCU que nous avons recruté ont été diagnostiqués par le laboratoire de biochimie du CHIS de Rabat. Le diagnostic a été confirmé chez ces malades qui présentaient les signes cliniques de la maladie par la détermination des taux sanguins de phénylalanine qui étaient tous très élevés. Nous avons étudié les parents qui étaient consentants dans l'objectif de mettre en évidence leur statut de sujets hétérozygotes obligatoires lorsque la mutation a été trouvée à l'état homozygote chez leur enfant malade. L'étude de ces parents devait aussi nous servir de base pour proposer la technique mise au point comme moyen de recherche des hétérozygotes dans la population Marocaine normale.

2.3.3.2 Place de la mutation p.G352fsdelG dans le spectre mutationnel de la population Marocaine

Dans l'étude publiée en 2010 par **Dahri S et al**, 20 familles atteintes de PCU et provenant de différentes régions furent étudiées afin de pouvoir déterminer le profil mutationnel des patients marocains.

Sur les 25 patients étudiés, seul 2 (8,3%) ont un statut d'hétérozygote composite puisqu'ils avaient chacun deux mutations différentes. L'ensemble des 23 autres patients (91,7%) étaient homozygotes avec un taux de consanguinité de 89% (16 familles sur 18).

Les mutations sont réparties sur les différentes régions exoniques (exons 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 10) et l'une d'entre elles est située dans l'intron 10. Le spectre mutationnel comprend 4 mutations non-sens, une délétion entraînant un décalage de cadre de lecture, 2 mutations faux-sens et une mutation affectant l'épissage (Tableau V)

Tableau V : spectre des mutations du gène PAH identifiées au Maroc (Dahri S et al. 2010)

Mutation		Emplacement	Effet sur les protéines	Nombre de chromosomes	Fréquence (%)
Nom de Trivial	Nom systématique				
p.G352fsdelG	c.1055delG	Exon 10	Frameshift	15	62,5
p.R176X	c.526C → T	L'exon 6	Non-sens	2	8.3
IVS10nt-11g> a	c.1066-11g> a	Intron 10	Épissage	2	8.3
p.K85X	c.253A> T	L'exon 2	Non-sens	1	4,17
p.W120X	c.359G → A	Exon 4	Non-sens	1	4,17
p.A165T	c.493G → A	L'exon 5	Faux sens	1	4,17
p.R243X	c.727C → T	L'exon 7	Non-sens	1	4,17
p.R243Q	c.728G → A	L'exon 7	Faux sens	1	4,17
Total				24	100

L'analyse moléculaire de la PCU a identifiée 8 mutations différentes dans les 20 familles étudiées. Sur ce, parmi les mutations identifiées, le *p.G352fsdelG* représentaient 62,5% du spectre de mutation totale probablement en raison du degré élevé des couples consanguins.

Dans notre travail la mutation *p.G352fsdelG* prédomine puisque nous l'avons mise en évidence chez 11 patients parmi les 16 étudiés. Elle est à l'état homozygote chez 5 patients et à l'état hétérozygote chez 6 malades, seul 5

patients sur les 16 ne présentaient pas cette mutation. Ceci fait une fréquence de la mutation *p.G352fsdelG* de 50% si l'on ne tient pas compte de la consanguinité. Ce résultat reste à confirmer car l'échantillon de patients PCU étudiés est relativement faible (16 malades) et la consanguinité n'a pas été prise en compte.

2.3.3.3 Apport de la technique

La technique nous a permis d'identifier des sujets homozygotes et hétérozygotes parmi les 16 patients PCU et 5 membres de leur famille (parents).

Parmi les sujets hétérozygotes, nous avons répertorié :

- Cinq parents de patients PCU (*p.G352fsdelG*/ Allèle non muté)
- Six enfants phénylcétonuriques (*p.G352fsdelG*/ Mutation non déterminée).

Les cinq parents sont hétérozygotes pour la mutation *p.G352fsdelG*, ce qui confirme que la mutation identifiée chez leur enfant malade est héritée et qu'il ne s'agit pas d'une néo mutation.

Les six patients PCU ont un génotype hétérozygote composite. Ils doivent avoir sur le deuxième allèle une mutation sévère puisque en matière de PCU il y a une corrélation phénotype/génotype (Tableau VI). La deuxième mutation peut être déterminée par séquençage de l'ensemble des exons ou par séquençage sélectif après avoir étudié l'ensemble des exons par DGGE (Dahri S et al. 2010). La mutation *p.G352fsdelG* est héritée de l'un des parents. Sa recherche dans la

fratrie permettrait de repérer 50% des frères ou sœurs porteurs hétérozygotes. Ceci peut contribuer à donner un conseil génétique éclairé à la famille.

Tableau VI : Relation phénotype et génotype observée dans la phénylcétonurie des patients marocains

Patient	Age de diagnostic	Phénotype (résultats cliniques)	Génotype	
			Allèle 1	Allèle 2
1	2 ans et 6mois	Profondément retardé	p.R176X	p.G352fs
2	10 mois	Profondément retardée, autisme, les problèmes d'alimentation	p.G352fs	c.1066-11G>A
3	10 mois	Profondément retardée, convulsion, eczéma	p.G352fs	p.G352fs
4	Dépistage néonatal	Hyperphénylalaninémie modérée (MHP)	p.S196T	p.G352fs

Les mutations trouvées chez les patients n° 1, 2 et 3 sont sévères puisqu'il s'agit de patients présentant les signes cliniques de la maladie. Chacun de ces patients a au moins sur l'un des deux allèles la mutation *p.G352fsdelG*. Le sujet n°4 porte également la mutation *p.G352fsdelG* sur un allèle alors que l'autre allèle porte la mutation *p.S196T*.

Cette dernière mutation est donc non sévère. Elle a été identifiée chez ce nouveau-né Marocain ayant été dépisté dans le cadre du programme de dépistage néonatal en Espagne et étiqueté comme ayant une MHP (hyperphénylalaninémie modérée) ne semblant pas nécessiter de traitement (Van Spronsen FJ. 2011).

2.3.4. LIMITES DE LA TECHNIQUE

Certes la mutation *p.G352fsdelG* est la plus fréquente au Maroc mais sa prévalence n'est que de 62,5%, sa recherche peut donc s'avérer négative chez de véritables patients PCU. Ainsi sa recherche chez les 16 patients PCU étudiés dans notre série a été positive chez 11 d'entre eux, ce qui permet une certaine efficacité dans la recherche des hétérozygotes et dans la prise en charge sur le plan du conseil génétique, mais 5 patients (31,25%) ne présentent pas la mutation. Pour ces patients et leur famille la recherche de la mutation *p.G352fsdelG* n'a donc pas d'utilité.

Par ailleurs la recherche de la mutation chez les 80 étudiants en pharmacie n'a pas donné de résultat positif. En supposant que la prévalence de la PCU au Maroc est la même que celle rapportée en moyenne en Europe, soit 1/10 000, on pourrait s'attendre à une fréquence des porteurs de PCU (hétérozygotes) de 1/50 dans la population générale. Dans ces conditions la fréquence des porteurs hétérozygotes de la mutation *p.G352fsdelG* dans la population générale serait de 1/80 puisque seul 62,5% des patients portent la mutation. Cet état de fait signifie que notre travail ne permet pas de tirer de conclusion valable sur la fréquence de la PCU au Maroc. La principale réserve est en relation avec la difficulté de constituer un échantillon représentatif de la population marocaine.

Nous étions conscients du biais de recrutement de notre échantillon d'étude, mais nous avons jugé utile d'entreprendre cette étude préliminaire dont le principal objectif est de sensibiliser la communauté scientifique et les autorités de tutelle sur la possibilité de mener des études de grande envergure sur une pathologie pour laquelle nous avons plus d'un demi-siècle de retard. En effet le dépistage néonatal systématique (DNS) de la PCU et sa prise en charge est de rigueur dans de nombreux pays de part le monde depuis plus de 50 ans. Il est donc temps de prendre en considération la PCU dans le système de santé Marocain. A notre humble avis il est nécessaire d'instaurer le DNS de la PCU et organiser sa prise en charge au Maroc. L'expérience du Laboratoire de Biochimie du CHIS de Rabat montre que sur une vingtaine d'années, plus de cent patients ont été diagnostiqués et dont la plupart n'ont pas pu être traités. Il y a ici un argument suffisamment puissant pour inciter à mener une étude sérieuse sur la prévalence réelle de la maladie et la nécessité ou pas d'instaurer son DNS et d'organiser sa prise en charge.

2.3.5 PRISE EN CHARGE APRES UN DEPISTAGE

Si le dépistage néonatal se révèle positif, il est réalisé un prélèvement de contrôle qui permet de confirmer l'hyperphénylalaninémie et d'éliminer une cause secondaire d'élévation de la PHE dans le sang. Le résultat de ce prélèvement, s'il est à nouveau positif, il sera interprété et peut engendrer la réalisation d'autres examens afin d'approcher l'identification de la forme phénotypique de l'enfant (PCU classique, atypique ou hyperphénylalaninémie modérée permanente) pour débiter au plus vite si besoin un régime alimentaire adapté.

Sur le plan pratique, il faut annoncer le diagnostic aux parents en leur expliquant les mesures thérapeutiques et en les éduquant à la prise en charge et à la surveillance de leur enfant.

2.3.5.1 Conduite à tenir après un dépistage néonatal systématique

Le dépistage est déclaré positif lorsque le taux de PHE est supérieur à 3 mg/dL (180 μ mol/L). Cependant, la prise en charge immédiate dépend du niveau de Phe dosé lors de ce dépistage.

Schématiquement, deux situations sont possibles (Figure 16) :

- Le taux est situé entre 3 et 5 mg/dL (180-300 μ mol/L) : le laboratoire de dépistage demande un prélèvement de contrôle :
 - si le taux est inférieur à 3 mg/dL (180 μ mol/L) : le nouveau-né est classé dans les dépistages négatifs.
 - si le taux de contrôle est à supérieur à 3 mg/dL (180 μ mol/L), le dépistage est alors déclaré positif et le nouveau-né rejoint le groupe des enfants pris en charge médicalement.
- Le taux de dépistage est supérieur à 5 mg/dL (300 μ mol/L) : le laboratoire de dépistage prévient immédiatement le centre médical responsable du traitement où l'enfant sera examiné et bénéficiera des examens suivants :
 - contrôle du taux de Phe.
 - dosage des bioptérines urinaires et de l'activité de la dihydroptéridine réductase (DHPR) sanguine pour dépister un déficit du métabolisme du BH4.
 - bilan hépatique et chromatographie des acides aminés plasmatiques pour éliminer les autres causes d'hyperphénylalaninémie.

- test au BH4 si le taux de PHE de contrôle est supérieur à 8 mg/dL (480 μ mol/L). (HAS, 2010)

Pour tout enfant dépisté, on doit se préoccuper du statut de sa fratrie et prévoir un dosage de Phe ainsi qu'une étude génétique aux membres de cette fratrie qui n'auraient pas bénéficié d'un dépistage néonatal.

Au Maroc le DNS n'est pas encore mis en place, ce qui a incité à développer un programme de dépistage orienté. Celui-ci consiste à diagnostiquer le cas index le plus précocement possible pour le mettre sous régime pauvre en Phe et prendre en charge sa famille. C'est dans ce cadre que notre travail peut apporter une aide non négligeable.

L'expérience Marocaine montre qu'un tel programme semble efficace dans la mesure où les enfants PCU qui ont pu être mis sous régime pauvre en Phe avant l'âge d'un an présentent un tableau clinique moins grave que leur frère ou sœur qui n'a pas pu être pris(e) en charge

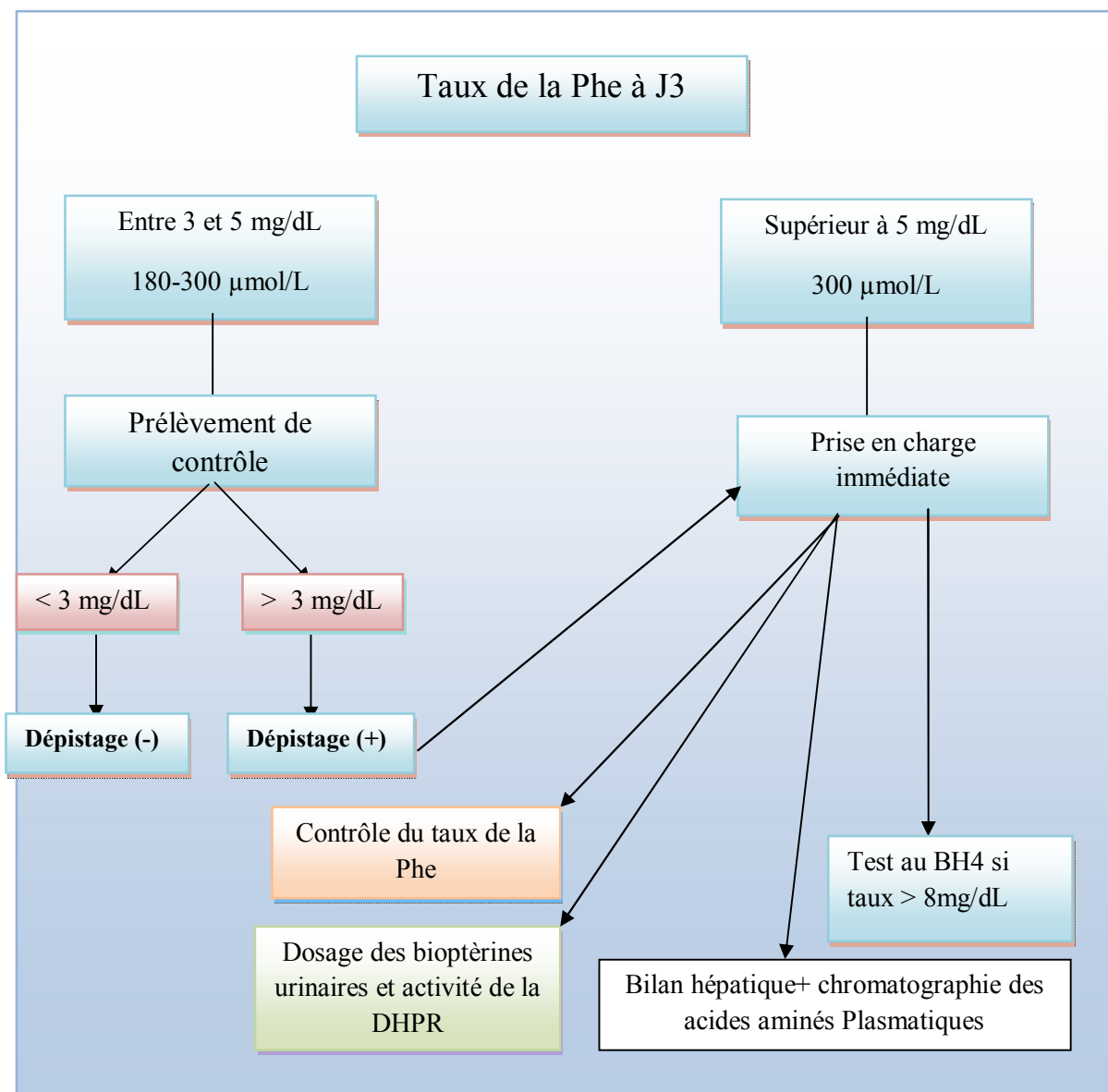


Figure 16: Conduite à tenir en fonction du résultat du DNS

La prise en charge d'un nouveau-né doit donner lieu à des explications claires vis-à-vis des parents. Il convient ainsi de les rassurer sur l'efficacité thérapeutique et sur le bon pronostic de cette maladie si les consignes nutritionnelles sont bien suivies.

Ces explications justifient des entretiens pluridisciplinaires avec à la fois les médecins, les diététiciens, les psychologues. Tous les premiers mots échangés sont essentiels et nécessitent de prendre du temps. (Abadie V. et al., 2005)

Le taux de Phe au dépistage dépend de plusieurs facteurs : du type de mutation du gène de la PAH mais aussi de la quantité des apports alimentaires en Phe (lait maternel ou artificiel) et également du niveau de catabolisme lié aux premiers jours de vie. La classification en PCU typique, atypique ou HMP ne peut être définitive en période néonatale.

Elle pourra être faite après un test de charge en phénylalanine effectué d'emblée ou à l'âge de 2 à 3 ans. (HAS, 2010)

En pratique le déroulement de la prise en charge idéale doit s'effectuer selon ce schéma :

- J3 : réalisation du carton de dépistage néonatal.
- J5 à J7 : réception, analyse de la PHE au laboratoire de dépistage néonatal et alerte du médecin responsable de la prise en charge du patient dépisté.
- J6 à J8 : hospitalisation du nouveau-né pour réalisation du test au BH4 (d'une durée de 24 heures).
- J7 à J9 : mise sous régime.

2.3.5.2 Les examens réalisés

La prise en charge nécessite la réalisation de tests biologiques que nous avons cités précédemment. Nous allons les décrire et étudier leurs intérêts.

a.) Le contrôle de la Phénylalaninémie

Le taux plasmatique en Phe doit être contrôlé toutes les 48 heures par dépôt de sang sur papier buvard, jusqu'aux chutes des taux à 2 mg/dL. Parallèlement, les

parents sont formés à la réalisation de prélèvements sanguins à l'aide de lancettes.

b.) Le dosage des biopérides urinaires et de l'activité de la DHPR

Le dosage des biopérides urinaires et la mesure de l'activité de la DHPR ne sont réalisés que si le taux plasmatique de Phe de contrôle est supérieur à 8mg/dL (480 µmol/L). Ces analyses sont faites pour mettre en relief d'éventuels dysfonctionnements dans la voie de synthèse du BH4 qui sont principalement responsables de « variants » de PCU.

Les biopérides urinaires sont dosées pour mettre en évidence un hypothétique déficit en GTP-cyclohydrolase I et l'activité de la DHPR est mesurée dans les globules rouges. (J.L. Dhondt, 2008)

Ces examens doivent être réalisés en pratique avant le test de charge en BH4. (HAS, 2010)

c.) Le bilan hépatique et la chromatographie des acides aminés plasmatiques

Le bilan hépatique et la chromatographie des acides aminés plasmatiques constituent un élément de diagnostic différentiel pour les HPA secondaires. (HAS, 2010)

d.) Le test à la tétrahydrobioptérine (BH4)

Le test au BH4 est indispensable pour déterminer si le patient atteint de PCU est sensible ou non au chlorhydrate de saproptérine (Kuvan®). Il peut être réalisé à tout âge, y compris en période néonatale. Le test de charge en BH4 doit s'insérer dans la prise en charge normale des enfants dépistés pour une HPA. Il ne doit pas retarder la mise sous régime.

Le principe est d'administrer une charge orale d'une dose unique de 20 mg/kg de BH4 le matin à jeun chez un enfant dont le taux de Phe est supérieur à 8 mg/dL avant la mise sous régime. Pendant le test, l'enfant est alimenté normalement (allaitement maternel ou lait artificiel normal).

Le dosage de la phénylalanine s'effectue aux temps suivants (h) : 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24h à partir de deux taches de sang déposées sur du papier de Guthrie. (HAS, 2010)

Quatre profils possibles sont observés après une charge en BH4 :

- pas de sensibilité : pas de modification du taux de Phe à 24 heures (moins de 30 % de variation par rapport au taux de base) n'induisant pas de possibilité de traiter le patient par BH4,
- sensibilité partielle: diminution d'au moins 30 % du taux de PHE dans les 24 heures après la charge. L'indication thérapeutique doit alors être évaluée patient par patient,
- sensibilité totale: normalisation du taux de phénylalanine dans les 24heures après la charge induisant une possibilité de traitement du patient parBH4,
- déficit de synthèse en BH4 : normalisation du taux de phénylalanine dans les 4 à 6 heures suivant la charge. Le traitement dans ce cas précis sera du BH4 associé à des neurotransmetteurs. (Maillot F. et al., 2004)

2.3.5.3 Prise en charge des patients atteints d'hyperphénylalaninémie modérée permanente.

Par définition, l'hyperphénylalaninémie modérée permanente (HMP) est suspectée lorsque le taux sanguin de Phe est compris entre 3 et 10 mg/dL.

Le diagnostic de l'HMP repose sur le test de charge en Phe que nous allons décrire. Ce test est effectué d'emblé ou à l'âge de 2 à 3 ans sachant que la classification en PCU typique, atypique ou HMP ne peut être définitive en période néonatale.

a.) Test de charge en Phénylalanine

L'intérêt de ce test fait l'objet de discussions. Le test de charge en Phe permet de savoir si l'enfant aura ou non besoin d'un substitut protéique, c'est-à-dire de différencier une HMP d'une PCU atypique qui nécessite de démarrer une prise immédiate de substitut protéique.

- Procédure

Après une prise orale de 500 mg par jour de phénylalanine, pendant quatre jours consécutifs, on réalise un dosage du taux de PHE au matin du cinquième jour.

Si le test de charge montre un taux supérieur à 10 mg/dL, le diagnostic de PCU atypique est suspecté et l'enfant est mis au régime avec d'emblée prise d'un substitut et conservation d'apports naturels en Phe correspondant à sa tolérance .

Si le test de charge montre des chiffres inférieurs à 10 mg/dL, on peut affirmer le diagnostic d'HMP et se contenter d'une surveillance. Si les apports spontanés du bébé sont déjà supérieurs à 500 mg/jour au moment du diagnostic, le test de charge est inutile et les taux de l'enfant à cette date valident le diagnostic initial d'HMP. (Abadie V. et al., 2005)

Ces patients doivent être vus en consultation et nécessitent une surveillance des taux sanguins de PHE qui doivent rester inférieurs à 10 mg/dL, (600 µmol/l).

Les contrôles sont effectués à domicile sur carton de Guthrie, une fois par semaine à une fois par mois selon la sévérité, jusqu'à la mise en place de la

diversification alimentaire. Ce schéma sera allégé par la suite et pourra être adapté en fonction de l'évolution.

2.3.5.4 Le génotypage

Un génotypage de la PAH peut être effectué mais ce n'est pas systématique. Ceci nécessite un prélèvement de 5 ml de sang dans un tube avec EDTA.

La recherche de la mutation *p.G352fsdelG* que nous avons mise au point peut être d'une grande utilité dans le contexte marocain. En effet le protocole décrit ci-dessous pour une prise en charge efficace de la PCU est relativement lourd et non réalisable actuellement au Maroc. Le test au BH4 nécessite la disponibilité de ce dernier, ce qui n'est le cas au Maroc. De même le test de charge nécessite un protocole relativement contraignant avec plusieurs prises de sang et plusieurs dosages de Phe. La mise en évidence de la mutation *p.G352fsdelG* chez les patients surtout si elle est présente à l'état homozygote dispense du protocole décrit ci-dessous, puisqu'il s'agit d'une mutation sévère à l'origine des formes typiques de PCU. Donc une recherche positive de la mutation permet d'emblé de décider d'une mise sous régime pauvre en Phe et de suivre le patient en contrôlant son taux sanguin de Phe.

2.3.5.5 La mise en place du régime

Le régime est mis en route dès l'arrivée du nourrisson, avec la prescription exclusive d'un substitut sans Phe, jusqu'à la chute des taux en dessous de 2 mg/dL. Les taux sont ensuite équilibrés entre 2 et 5 mg/dL en mélangeant le substitut sans Phe à un lait normal pour nourrisson choisi parmi les plus pauvres en protéines. En cas d'allaitement maternel, celui-ci est interrompu pendant la phase de descente des taux puis repris en donnant à l'enfant une tétée au sein alternée avec une prise de substitut sans Phe ou une prise d'une quantité

contrôlée de substitut complétée par le lait maternel. En cas d'échec, on revient au protocole d'allaitement artificiel.

La tolérance de l'enfant est transitoirement estimée comme la quantité de Phe quotidienne qu'il peut ingérer par 24 heures pour que ses taux sanguins restent entre 2 et 5 mg/dL. (V. Abadie et al., 2005)

2.3.6 PERSPECTIVES D'AVENIR DU TRAITEMENT DE LA PCU

De nouvelles stratégies thérapeutiques fondées sur l'étude théorique de la biochimie et de la physiopathologie de la PCU sont étudiées à différents niveaux du corps humains : intestin, foie, barrière hémato-encéphalique (BHE), muscles.

2.3.6.1 Au niveau de l'intestin

a.) La Pal : phénylalanine amoniac lyase

La phénylalanine amoniac lyase (Pal), est un enzyme capable de métaboliser la L-Phe en un dérivé non toxique, l'acide trans-cinnamique et en ammoniac. L'ammoniac ainsi produit est facilement converti en urée par l'organisme. Cette enzyme est donc capable de diminuer significativement le taux de Phe circulant. (Wang L. et al., 2005)

Pour qu'elle soit active, la PAL nécessite d'être protégée du système immunitaire humain, en étant pégylée (Sarkissian CN et al. 2005).

La pégylation est un processus de fixation de chaînes de polymère de polyéthylène glycol. Cette technique permet également une action plus longue dans le temps de l'enzyme. (Gamez A. et al., 2007)

Les études pré-cliniques sur le modèle murin à l'aide d'alimentation par gavage ou d'injections sous cutanée ou en intrapéritonéale de Pal, ont été prometteuses, montrant une diminution de la phénylalaninémie au niveau cérébrale et vasculaire. Le premier essai clinique du PEG-Pal (la Pal pégylée), a été lancé en

2008 aux Etats-Unis. Malgré un tel traitement enzymatique, la tyrosine demeure un AA indispensable et doit être apporté en supplément. (Van Spronsen F. et al., 2010)

2.3.6.2 Au niveau du foie

La partie essentielle du métabolisme de la Phe a lieu dans le foie. En effet, la PAH ainsi que les enzymes impliquées dans la régénération de la BH4 sont actifs au niveau des hépatocytes. C'est pourquoi de nombreuses recherches sont ciblées autour de cet organe. (Van Spronsen F. et al., 2010)

a.) La thérapie génique

Après l'analyse du gène de la PAH, des protocoles expérimentaux en thérapie génique ont émergé. Les études récentes de Ledley et al. portant sur le modèle murin, ont été prometteuses et corrigeraient à terme l'HPA murine.

Cette technique fait appel à l'administration d'un adénovirus recombiné comme vecteur de gènes sains, ce qui limiterait les effets indésirables sur la réponse immune. (Van Spronsen F. et al., 2010)

b.) La transplantation d'hépatocyte

La transplantation d'hépatocytes est une technique qui n'a jamais été tentée sur le modèle murin pour la PCU alors qu'elle a donné des résultats dans d'autres maladies métaboliques. Les cellules du donneur devront être compatibles avec celles du receveur. Les thérapies cellulaires utilisant des cellules souches indifférenciées peuvent éventuellement être une solution dans le traitement de la PCU.

2.3.6.3 Au niveau des cellules musculaires

Des études novatrices ont été menées par **Ding** et ses collaborateurs sur les cellules musculaires de souris qui pourraient être une cible pour la thérapie

génique. En effet, des chercheurs réfléchissent à ce défi technique considérant que les gènes musculaires ont l'avantage de faciliter l'administration de vecteurs thérapeutiques par rapport au foie. Cependant, il convient d'insérer dans les vecteurs, les gènes de la PAH et des différentes enzymes impliquées dans la synthèse et la régénération de son co-facteur, la BH4.

2.3.6.4 Au niveau cérébral

Si l'on étudie le fait que les effets délétères de la PCU sont presque entièrement limités au cerveau et que le cerveau est séparé du reste du corps par la BHE, on peut soutenir l'hypothèse selon laquelle la BHE est d'une importance centrale dans la pathogénie de la PCU. L'utilisation de LNAA, nous l'avons vu, entraîne des diminutions importante de concentration de PHE cérébrale.

Les études de Möller et al., Weglage et al. et Koch, ont concluent que le polymorphisme du gène codant pour le transporteur LAT-1, pourrait jouer un rôle majeur dans la détermination du risque de lésions cérébrales chez les patients atteints de PCU.

La liste des transporteurs d'AA connus ne cessant de croître, de nouvelles études sont nécessaires pour identifier les gènes qui ont le potentiel d'influer sur le niveau de PHE cérébral. (Van Spronsen J. et al. 2010)

Dans l'ensemble l'avenir du traitement de la PCU n'a jamais était aussi prometteur.

CONCLUSION

La PCU est la première maladie à avoir bénéficié d'un dépistage néonatal systématique dans la plupart des pays industrialisés et de ce fait, elle a servi de modèle pour l'extension du dépistage néonatal à d'autres maladies.

Ce dépistage a permis la prise en charge rapide des nouveaux-nés atteints, 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.

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.

Cependant, après plus de 40 ans de prise en charge nutritionnelle, la prise en charge de la PCU s'est modifiée avec l'apparition de nouveaux traitements (BH4, acides aminés neutres) et la perspective de traitements révolutionnaires (PAL, thérapie génique). Ces traitements innovant pourraient dans un futur plus ou moins proche laisser un peu plus de liberté dans l'alimentation des malades.

Néanmoins, quelle que soit la façon que l'on prendra pour faire baisser la PHE plasmatique, un suivi complet et en particulier nutritionnel restera indispensable.

La PCU au Maroc est encore une maladie à laquelle on y prête pour ne pas dire pas mais très peu d'attention. En effet depuis l'an 2000, une centaine de patients PCU ont été diagnostiqués au centre d'étude des maladies héréditaires du métabolisme ce nombre pourrait certainement s'alourdir si l'on tenait compte des patients qui n'ont jamais été enregistrés au sein du centre.

La grande majorité des malades ont été dépistés après l'installation de la maladie c'est-à-dire dès l'apparition des premiers symptômes, et nombre d'entre-eux ne bénéficie guère d'un régime pauvre en PHE vu caractère onéreux de ces produits spéciaux.

La poignée d'enfants qui sont sous régime, en sont grâce à l'intervention de certaines associations, d'autres sont sous la responsabilité de leur parents.

Certains parents sont obligés d'alterner la tétée avec le régime chez les nourrissons à cause de l'inaccessibilité des produits.

Exposant ainsi leurs enfants aux effets délétères de la PHE tels qu'ils ont été développés dans les chapitres précédents.

Les résultats de cette étude nous a permis de démontrer l'efficacité ainsi que les limites de cette technique, mais aussi de confirmer la prédominance de la mutation p.G352Vfs delG au sein de la population PCU du Maroc.

Cette étude s'est avéré également un travail de sensibilisation à l'égard des autorités du ministère de la santé dans le cadre de la création des centres spécialisés dans le dépistage néonatal, la mise en place du dépistage néonatal systématique et surtout la prise en charge des patients PCU.

Sensibilisation et aussi formation des professionnels de santé dans le cadre du suivi des patients PCU, conseil et éducation de la population par rapport au mariage consanguin puisque cette dernière permet d'entretenir les mutations au sein d'une population donnée.

Pour le déficit en BH₄, on note une consanguinité dans 2/3 des cas. (Pierre Maurel et al. 2006)

Sur ce, nous dirons que la PCU n'est pas une fatalité et encore moins une maladie incurable. La seule et unique façon d'éviter la fatalité du retard mental qui est le symptôme le plus marquant est le dépistage néonatal systématique et surtout un régime pauvre en PHE strict et rigoureux.

RESUMES

RESUME

Titre : Etude moléculaire de la Phénylcétonurie : recherche de la mutation *p.G352fsdelG* par RFLP

Mots clés : Phénylcétonurie, *p.G352fsdelG* et RFLP

Auteur : BWANGA KUMABWENA Max

Introduction : La PCU est une maladie héréditaire du métabolisme liée au déficit en PAH. Aujourd'hui, une grande variété d'allèles PAH est présente et plus de 700 mutations ont été répertoriées dont la *p.G352fsdelG*. Notre étude a pour objectif de mettre au point une technique qui permettra de rechercher la mutation *p.G352fsdelG* par RFLP.

Patients et Méthodes : Nous avons choisi deux primers permettant d'amplifier un fragment de 220 pb autour du codon 352 avec deux sites pour l'enzyme de restriction HphI. Nous avons appliqué le protocole chez 16 enfants diagnostiqués comme atteints de PCU et 5 membres de famille de patients. Nous avons aussi recherché la mutation chez 80 individus sains parmi les étudiants de la Faculté de Pharmacie de Rabat.

Résultats : Notre population d'étude était constituée majoritairement de femme que d'homme toutes catégories confondues. Nos résultats montrent qu'aucun des étudiants ne porte la mutation *p.G352fsdelG*.

Parmi les 16 patients étudiés, nous avons diagnostiqué 5 sujets homozygotes, 6 hétérozygotes et 5 présentent une autre mutation non déterminée. Enfin, tous les 5 membres de familles des patients ont été diagnostiqués hétérozygotes.

Discussion et Conclusion : Nos résultats montrent que la technique que nous avons mise au point pourrait être utilisée en première intention avant le séquençage lors du diagnostic moléculaire chez les patients PCU. La présence de la mutation à l'état homozygote chez les patients témoigne de la sévérité de la maladie et la nécessité de traiter le patient par un régime pauvre en Phe. La technique peut aussi être utilisée dans le cadre des études familiales lorsqu'un cas index a été diagnostiqué.

SUMMARY

Title: Molecular study of the Phenylketonuria: research for the mutation p.G352fsdelG by RFLP

Keywords: Phenylketonuria, p. G352fsdelG and RFLP

Author: BWANGA KUMABWENA Max

Introduction: The PKU is an inherited metabolic disease due to a deficiency in PAH. Today, a variety of PAH alleles are known and more than 700 mutations have been reported among which we note the mutation *p.G352fsdelG*. Our study aims to develop an RFLP technique for the identification of the mutation *p.G352fsdelG*.

Patients and Methods: We have chosen two primers to amplify a 220 bp fragment including the codon 352. The amplified fragment contains two sites for the restriction enzyme HphI. We applied the protocol in 16 children diagnosed with PKU and in five members of patient's families. We also investigated the mutation in 80 healthy individuals among the students of the Faculty of Pharmacy of Rabat.

Results: Our study population consisted mainly of women than men in all categories. Our results show that the mutation *p.G352fsdelG* was absent in all the students we studied.

Of the 16 patients studied, 5 were homozygous and 6 were heterozygous for the mutation p.G352fsdelG which was absent in 5 patients who must carry other mutations. Finally, 5 members of the patient's families were heterozygous

Discussion and conclusion: Our results show that the technique we have developed could be used prior to sequencing in molecular diagnosis in patients with PKU. The presence of the mutation in the homozygous state in a patient reflects the severity of the disease and the need to treat the patient with a diet low in Phe. The technique can also be used as part of family studies when an index case was diagnosed. The search for the mutation in the siblings would identify heterozygous carriers.

ملخص

العنوان: دراسة جزيئية لمرض بيلة الفينيل كيتون: بحث عن طفرة (p.G352fsdelG) باستخدام RFLP

كلمات البحث: بيلة الفينيل كيتون (PKU)، و RFLP p.G352fsdelG

المؤلف: ماكس بوانكا كومابوينا

مقدمة: PKU هو أحد أمراض التمثيل الغذائي الموروثة المرتبطة نقص الهيئة العامة للإسكان. اليوم، مجموعة متنوعة من الأليلات الهيئة العامة للإسكان وجود وتم الإبلاغ عن أكثر من 700 من الطفرات التي p.G352fsdelG. دراستنا تهدف إلى تطوير تقنية من شأنها أن العثور على الطفرة التي RFLP p.G352fsdelG.

المرضى والطرق: نحن اختيار اثنين الاشعال لتضخيم شظية BP 220 حول كودون 352 مع اثنين من المواقع لتقييد HphI الانزيم. طبقنا البروتوكول في 16 طفلا مصابين PKU وخمسة من أفراد أسرة المرضى. نحن أيضا التحقيق في هذه الطفرة في 80 الاشخاص الاصحاء من طلبة كلية الصيدلة من الرباط.

النتائج: تألفت مجموعة الدراسة لدينا أساسا من النساء أكثر من الرجال في جميع الفئات (الطلاب والمرضى). ومثلت تقريبا جميع مدن المملكة لكن أغلب المشاركين من الرباط، فاس والدار البيضاء. نتائجا أظهرت ان الطفرة p.G352fsdelG كانت غائبة في جميع الطلاب الثمانون. من بين 16 مريضا، وجدنا خمس حالات متماثلة اللواقح وستة حالات متجانسة بالنسبة للطفرة p.G352fsdelG. هذه الطفرة كانت غير موجودة لدى المرضى الخمسة الآخرين الذين من المفترض أن يحملوا طفرات أخرى. أخيرا، فيما يتعلق بالأفراد الخمسة من أسر المرضى، لقد كانت حالتهم متغايرة.

المناقشة والاستنتاج: نتائجا تظهر أنه يمكن استخدام التقنية التي وضعنا قبل التسلسل في التشخيص الجزيئي عند المرضى الذين يعانون من PKU. وجود الطفرة في وضع متماثل عند المريض يعكس شدة المرض والحاجة إلى علاج المريض مع اتباع نظام غذائي منخفض في الفينيل ألانين. ويمكن أيضا أن نستخدم هذه التقنية كجزء من دراسات الأسرة عندما يتم تشخيص وجود حالة دالة. فإن البحث عن الطفرة في الأشقاء تحديد حاملات متغايرة. وهذا يمكن أن يساعد على توفير الاستشارة الوراثية المستنيرة للأسرة.

REFERENCES

RESSOURCES INTERNET

ABADIE V. L'embryopathie phénylcétonurique. Encyclopédie orphanet, janvier 2004, disponible sur <http://www.orpha.net>

AFSSAPS. Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale disponible sur <http://www.afssaps.fr>

ANALYSE DU GENE DE LA PAH disponible sur <http://www.pahdb.mcgill.ca>, consulté le 15 décembre 2010.

BILAN D'ACTIVITE DE L'AFDPHE disponible sur <http://www.orpha.net>

BONNARD A. L'aspartame, disponible sur <http://www.ensaia.inplnancy.fr>

CHOCARNE P, FAGOT J-P, VERMILLARD V. pour l'Afssaps, Plan de gestion de risque de la spécialité pharmaceutique KUVAN®, 2010, disponible sur <http://www.afssaps.fr>

CNAMT. Circulaire CIR-19/2008, disponible sur <http://www.mediam.ext.cnamts.fr>

Descriptif de Kuvan® disponible sur http://www.merckserono.fr/cmgerckserono_fr/

HAS, Service des maladies chroniques et dispositifs d'accompagnement des malades, disponible sur <http://www.has-sante.fr>

Maurin N., Sarles J. Le dépistage néonatal disponible sur <http://www.univ-stetienne.fr>

Site de l'AFDPHE disponible sur <http://www.afdphe.fr>

Site de l'APEP disponible sur www.a pep-pcu.ch

Site d'information sur la PCU de Merk Serono® disponible sur <http://www.pku.com/fr>

Site de la revue Science direct disponible sur <http://www.sciencedirect.com>

Site de PAH : Phenylalanine hydroxylase locus knowledgebase
sur [http:// www.pahdb.mcgill.ca](http://www.pahdb.mcgill.ca)
VIDAL, descriptif de Kuvan® disponible sur <http://www.vidal.fr>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABADIE V., BERTHELOT J., FEILLET F. et al. Archives de Pédiatrie. Volume 12. Mai 2005, p. 594-601.

ABADIE V., BERTHELOT J., FEILLET F. et al. Early Human Development. Volume 65. Issue 2. Décembre 2001

AMBROISE M. Apports nutritionnels conseillée pour la population française. 3ème édition. Ed Tec and Doc. 2007

ANDERSON P., LEUZZI V. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 99. Supplement 1.2010

BLAU N., VAN SPRONSEN J., LEVY H. The Lancet. Volume 376. Issue 9750. Octobre 2010, p. 1417-1427.

BLAU N., ERLANDSEN H. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 82. Issue 2. Juin 2004, p. 101-111.

BOUTRY C., BOS C., TOME D. Nutrition Clinique et Métabolisme. Volume 22. Issue 4. Décembre 2008, p. 151-160.

BOZON D., MATHIEU M., Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. Volume 7. Issue 3. Juin 1992, p. 17-25.

BRIARD M-L. Archives de Pédiatrie. Volume 10. Supplément 1. Mai 2003, p. 19-21.

BROSS R., BALL R., CLARKE J., PENCHARZ P. Tyrosine requirements in children with classical PKU determined by indicator amino acid oxidation. Volume 278.

BRUMM V., BILDER D., WAISBREN S. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 99. Supplement 1. 2010, p. 59-63.

CHRIST S. Asbjørn Følling and the discovery of phenylketonuria. *J. Hist. Neurosci.* 2003, p.44–54.

CHRIST S., HUIJBREGTS S., DE SONNEVILLE L. et al. *Molecular Genetics and Metabolism*. Volume 99. Supplement 1. 2010, p 22-32.

DE PARSCAU L. *Médecine thérapeutique / Pédiatrie*. Volume 4. Numéro 6. Novembre - Décembre 2001

DESPOIT J-C., MAILLOT F., DE ROUVRAY C. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. Volume 24. Issue 3. Septembre 2010

DESPOIT J-C., MAILLOT F., DE ROUVRAY C. *Pratiques en nutrition*. N° 24. Octobre-Décembre 2010, p. 59-61.

DHONDT J-L. *Archives de Pédiatrie*. Volume 15. Issue 5. Juin 2008

DHONDT J-L., Association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant (AFDPHE). *Archives de Pédiatrie*. Volume 17. Issue 10, Octobre 2010.

DHONDT J-L., HAYTE J. *Annales de Biologie Clinique*. Volume 60. Numéro 2, Avril 2002, p. 165-71.

DOBROWOLSKI S., ELLINGSON C., COYNE T. et al. *Molecular Genetics and Metabolism*. Volume 91. Issue 3. Juillet 2007, p. 218-227.

ENNS G., KOCH R., BRUMM V. et al. *Molecular Genetics and Metabolism*. Volume 101. Issues 2-3, Novembre 2010.

EWENCZYK C., ROZE E. *Revue Neurologique*. Volume 163. Issue 4. Supplement 1, Avril 2007, p. 162.

FARRIAUX J-P., DEBRABANDER A. Régime du phénylcétonurique. *Encycl Méd Chir. Pédiatrie*.

FARRIAUX J-P., TURCK D., SARDET A. et al. *Archives de Pédiatrie*. Volume 10. Supplement 1, Mai 2003.

- FEILLET F. Archives de Pédiatrie. Volume 15. Issue 5, Juin 2008, p. 606-607.
- FEILLET F. La Presse Médicale. Volume 35. Issue 3. Part 2, Mars 2006, p. 502-508.
- FRANÇOIS L., GRENECHE M-O, GIRAUD M., OGIER DE BAULNY H. Cahier Nutrition diététique.
- GAMEZ A., WANG L., CHRISTINEH N. et al. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 91.
- GENTILE J-K, TEN HOEDT A., BOSCH A. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 99.
- GILLES C., ROY S., OGIER DE BAULNY H. et al. Journal de Pharmacie Clinique. Volume 25. Numéro 3, Juillet-Août-Septembre 2006.
- GOLDENBERG A., SAUGIER-VEBER P. Pathologie Biologie. Volume 58. Issue 5, October 2010, p. 331-342.
- HAMERS F., DOWNS A. The Lancet. Volume 364. Issue 9428, Juillet 2004, p. 83-94.
- HANKY W. et al. I Early Human Development. Volume 47, 1997, p87-96
- HANLEY W. The American Journal of Medicine. Volume 117. Issue 8. Octobre 2004, p.590-595. INHER J. Metab. Dis. 20, 1997, p. 603– 604.
- KIM S., JUNG J., OH H. et al. Clinica Chimica Acta. Volume 365. Issues 1-2, Mars 2006, p 279-287.
- KOCH R., MOSELEY K., YANO S., et al. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 79. Issue 2. Juin 2003, p. 110-113.
- LABARTHE F., WILLOT S., ROULLET-RENOLEAU N. et al. Nutritional management of rare metabolic diseases in paediatrics. Réanimation. Volume 19. Issue 5, Septembre 2010.
- LAMORIL J., BOGARD M., AMEZIANE N. et al. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, Volume 22. Issue 5. Octobre 2007, p. 282-297.

LE BIHAN D., Nature Reviews Neuroscience, vol. 4, no 6, Juin 2003, p. 469–480.

LE MOËL G., SAVEROT-DAUVERGNE A., GOUSSON T. et al. Le statut vitaminique. Éd. médicales internationales, 1998, 550 p.

LEE P-J., RIDOU D., WALTER J., COCKBURN F. Arch Dis Child, 2005, p.143–146.

LEVY H., MILANOWSKI A., CHAKRAPANI A. et al. The Lancet. Volume 370. Issue 9586. 2007, p. 504-510.

LEVY H., GULDBERG P., GÜTTLER F. et al., Pediatric Research. Volume 49. Numéro 5, 2001, p. 636-642.

MAILLOT F., DESPORT J-C., RIVOL M., PAS ENCORE PUBLIE parution en 2011.

MAILLOT F., LILBURN M., BAUDIN J. et al. La Revue de Médecine Interne. Volume 28. Supplément 1, Juin 2007, p. 77-78.

MAILLOT F., COOK P., LILBURN M., LEE P-J. J. Inherit Metab Dis, 2007, p.198–201.

MARTIN A., LAFAY L., VOLATIER J-L. Cahiers de Nutrition et de Diététique. Volume 39. Issue 1, Février 2004, p. 65.

MONNIER L., COLETTE C., Médecine des Maladies Métaboliques. Volume 4. Issue 5, Octobre 2010, p. 537-542.

MOUSSARD C. Biochimie structurale et métabolique, 3e édition, 2006, 352 p.

PENROSE L. Lancet 226. 1935, p. 192–194.

PEYNE E., MEYER M., VASSON M-P. Nutrition Clinique et Métabolisme. Volume 20. Issue 1. Mars 2006, p. 26-40.

PORTA F., ROATO I., MUSSA A. et al. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 93. Issue 3. Mars 2008.

[52] SANTILLAN D, SANTILLAN M, HUNTER S. American Journal of Obstetrics and Gynecology. Volume 201. Issue 3, Septembre 2009, p. 289.

SCRIVER C., BEAUDET A., SLY W. et al. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th edn, 2001, p. 90-95.

SCRIVER C., LEVY H., BURTON B., CEDERBAUM S. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 94. Issue 4. Decembre 2007, p. 287-291.

SCRIVER, C., The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th edit, 2000.

SERRE G., PLARD V., PRADERE J. et al. EMC – Psychiatrie. Volume 2. Issue 3. Août 2005, p. 238-245.

STRYER L., BERG J., TYMOCZKO J. Biochimie 5ème édition. 2003, p. 654-655.

SUCHER R., SCHROECKSNADEL K., WEISS G. Cancer Letters. Volume 287. Issue 1, Janvier 2010, p.13-22.

SUCHER R., SCHROECKSNADEL K., WEISS G. et al. Cancer Letters. Volume 287. Issue 1, Janvier 2010, p. 13-22.

TAPIERO H. Les oligo-éléments : prévention des maladies humaines. Éditions médicales et scientifiques EDK, 2005.

TEISSIER R., DE PARSCAU L. Archives de Pédiatrie. Volume 15. Issue 5, Juin 2008

THIOULOUSE E., BERTHE M-C., COUDERC R. Revue Francophone des Laboratoires. Volume 2010. Issue 425, Septembre-Octobre 2010, p. 53-64.

THONY B., AUERBACH G., BLAU N. Biochem J, 2000. p. 347-348.

VAN SPRONSEN J., ENNS G. Molecular Genetics and Metabolism. Volume 99.

VAN SPRONSEN J., ENNS G GM (2010) Future treatment strategies in phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 99Suppl 1: S90-95.

VAN SPRONSEN FJ, Hoeksma M, Reijngoud DJ (2009) Brain dysfunction in phenylketonuria: is phenylalanine toxicity the only possible cause? *J Inherit Metab Dis* 32(1): 46-51.

WALTER JH, Tyfield LA, Holton JB, Johnson C (1993) Biochemical control, genetic analysis and magnetic resonance imaging in patients with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 152(10): 822-827.

WATERS PJ, Parniak MA, Akerman BR, Scriver CR (2000) Characterization of phenylketonuria missense substitutions, distant from the phenylalanine hydroxylase active site, illustrates a paradigm for mechanism and potential modulation of phenotype. *Mol Genet Metab* 69(2): 101-110.

WATERS PJ, Parniak MA, Nowacki P, Scriver CR (1998) In vitro expression analysis of mutations in phenylalanine hydroxylase: linking genotype to phenotype and structure to function. *Hum Mutat* 11(1): 4-17.

WEGLAGE J, Moller HE, Wiedermann D, Cipcic-Schmidt S, Zschocke J, Ullrich K (1998a) In vivo NMR spectroscopy in patients with phenylketonuria: clinical significance of interindividual differences in brain phenylalanine concentrations. *J Inherit Metab Dis* 21(1): 81-82.

WEGLAGE J, Wiedermann D, Moller H, Ullrich K (1998b) Pathogenesis of different clinical outcomes in spite of identical genotypes and comparable blood phenylalanine concentrations in phenylketonurics. *J Inherit Metab Dis* 21(2): 181-182.

WEISS KM, Buchanan AV (2003) Evolution by phenotype: a biomedical perspective. *Perspect Biol Med* 46(2): 159-182.

WILLIAMNS RA, MAMOTTE CD, Burnett JR (2008) Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. *Clin Biochem Rev* 29(1): 31-41.

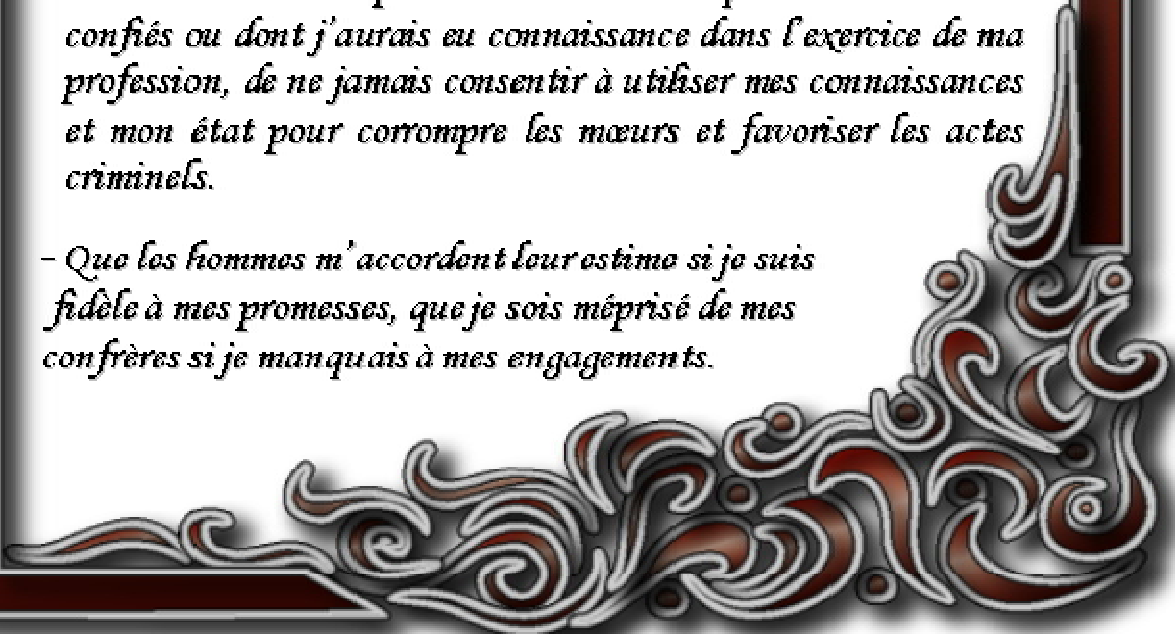
Wretborn M, Humble E, Ragnarsson U, Engstrom L (1980) Amino acid sequence at the phosphorylated site of rat liver phenylalanine hydroxylase and

phosphorylation of a corresponding synthetic peptide. *Biochem Biophys Res Commun* 93(2): 403-408.

Wu C, Schulte J, Sepp KJ, Littleton JT, Hong P (2010) Automatic Robust Neurite Detection and Morphological Analysis of Neuronal Cell Cultures in High-content Screening.

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
 - *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
 - *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
 - *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
 - *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*
- 

**دراسة جزيئية لمرض بيلة الفينيل كيتون:
بحث عن طفرة (p.G352fsdelG) باستخدام RFLP.**

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرفه

السيد: ماكس بوانكا كوما بوينا

المزاد في: 05 ماي 1986 بكنشاسا (الكونكو الديمقراطية)

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: بيلة الفينيل كيتون (PKU) – و p.G352fsdelG – RFLP.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد: عمر شقيري
أستاذ في علم الأنسجة والأجنة
السيد: العياشي الشراوي
أستاذ في الكيمياء الإحيائية
السيدة: الزهرة أوزيف
أستاذة في الكيمياء الإحيائية
السيدة: سناء بوحساين
أستاذة مبرزة في الكيمياء الإحيائية
السيد: عمر أكادر
أستاذ مبرز في طب الأطفال